Ueber die Mikrogehaltsbestimmung homöopathischer Urtinkturen

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
ZU FRANKFURT AM MAIN

vorgelegt von

WALTER SCHMID
aus Frankfurt a. M.

1939

Dissertations-Druckerei F. W. Kalbfleisch, Gelnhausen

1. Gutachter: Professor Dr.-Ing. H. Dieterle

2. Gutachter: Professor Dr. Dr. Dimair

Tag der mündlichen Prüfung: 24. April 1939.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern gewidmet!

Vorliegende Arbeit wurde im Pharmazeutischen Institut der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. Dieterle ausgeführt.

Es sei mir gestattet an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. Dieterle, für die Übertragung der Arbeit, für die wertvollen Ratschläge und für das wohlwollende Entgegenkommen, das er meiner Arbeit stets zuteil werden ließ, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Theoretischer Teil.

Die Untersuchung von homöopathischen Urtinkturen, Essenzen und anderen Darreichungsformen kann von zweierlei Gesichtspunkten aus erfolgen. Theoretisch, geleitet von der Arzneimittellehre und ihren Erkenntnissen, ergibt sich die Forderung einer Totalanalyse, um ein genaues Bild der Arzneiform zu erhalten. Für die Praxis jedoch kommt ihre Durchführung wegen des großen Arbeitsaufwandes nicht in Frage. Man muß also versuchen aus Teilanalysen, die z. B. die Kenntnis besonders prägnanter Inhaltsstoffe vermitteln, ein Wirkungsbild zu konstruieren. So verzichtet auch das homöopathische Arzneibuch auf die Erfassung aller Inhaltsstoffe und begnügt sich mit der Auswertung differenzierter Wirkstoffe. Je eindeutiger nun die erfaßten Wirkstoffe sind und je mehr ihre Wirkung im Vordergrund der Gesamtwirkung steht, desto näher kommt das Ergebnis der theoretischen Forderung.

Die Untersuchung der Homöopathica nach diesem praktischen Gesichtspunkt hat nun besonders in qualitativer Hinsicht erhebliche Fortschritte gemacht. Dabei zeigt sich eine recht deutliche Abkehr von den relativ groben chemischen Methoden zugunsten physikalisch-chemischer Untersuchungsverfahren, die den Nachweis von Substanzen noch in sehr geringen Mengen ermöglichen, wie z. B. die Kapillarlumineszensanalyse. Naheliegend war nun, ähnliche Methoden auch zur quantitativen Analyse heranzuziehen.

Es wurden solche Tinkturen ausgesucht, deren Gehaltsbestimmung, nach den Methoden des Homöopathischen Arzneibuches (abgekürzt H. A. B.) ausgeführt, nicht genau erschien, so daß nur approximative Werte erhalten wurden; ferner solche, bei denen eine solche Methode zur Bestimmung der Inhaltsbestandteile nicht in das H. A. B. aufgenommen sind.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befaßt sich mit der Isolierung, Trennung und quantitativen Erfassung von Alkaloiden im Sinne einer Vereinfachung und Verbesserung der bestehenden Vorschriften des H. A. B.

Einige Vorversuche sowie Literaturhinweise ließen zwei Methoden zur Trennung und Isolierung der Alkaloide aussichtsreich erscheinen: die Kapillaranalyse und die chromatographische Adsorptionsanalyse, zwei wesensverwandte Untersuchungsverfahren,

die beide auf der fakultativen Adsorption von Einzelbestandteilen eines Stoffgemisches an gewisse Adsorbentien beruhen. Es ist bekannt und von verschiedenen Autoren[1]) gezeigt worden, daß die Möglichkeiten der Kapillaranalyse keineswegs mit ihrer Ausführung erschöpft sind, vielmehr erst mit der Aufarbeitung der erhaltenen Kapillarstreifen anfangen. Wenn trotzdem der Adsorptionsanalyse der Vorzug gegeben wurde, so deshalb, weil ihre Ausführung wesentliche Zeitersparnis bedeutet und immer konstante Ergebnisse liefert. Die Adsorptionsanalyse ist weitestgehend unabhängig von äußeren Einflüssen wie Luftdruck, Feuchtigkeit und Temperatur. Sie unterscheidet sich deshalb wesentlich von der Kapillaranalyse, deren größter Nachteil die mangelnde Reproduktionsfähigkeit auf Grund der Abhängigkeit obengenannter Faktoren ist.

Der Entdecker der Adsorptionsanalyse war der russische Botaniker Tswett, dessen geniale Methode jedoch bald in Vergessenheit geriet, um in ihrer ganzen Tragweite erst wieder in neuerer Zeit sozusagen neuentdeckt und nun im Gegensatz zu Tswett in die präparative organische Chemie eingeführt zu werden.

Die Arbeiten von Winterstein, Kuhn, Lederer, Karrer und Schöpp haben großen Anteil an der Weiterentwicklung der Methode und in neuester Zeit wurden beachtliche Erfolge auf dem Gebiet der biologisch-chemischen, präparativen Forschung erzielt[2]).

Wenn auch bereits gewisse, wohl eindeutige Vorstellungen über die Vorgänge während der Adsorption herrschen[3]), so fehlen doch die letzten Erkenntnisse, die es gestatten würden, den Arbeitsgang von vornherein festzulegen. Unser Wissen um die Beziehungen zwischen Molekülbau und Adsorption oder besser Atomgruppen und Adsorption verdanken wir in der Hauptsache den planmäßig durchgeführten Versuchen in der Farbstoffchemie von

---

[1]) Pharm. Ztg. 80. 28 (1935).
[2]) H. 241, 104 (1936).
Bull. soc. chim. biol. 17, 1534 (1935).
H. 228, 90 (1934).
Biochem. Journ. 29, 2510 (1935).
Biochem. Journ. 30, 897 (1936).
H. 238, 233 (1936).
Svensk. kem. Tidskr. 48, 135 (1936).
[3]) Zechmeister und Cholnoky: Die chrom. Ads. Analyse (1938).

Kuhn und Winterstein[4]), Winterstein und Schön[5]), Ruggli und Jensen[6]) sowie Winterstein[7]).

Es erschien nun sehr aussichtsreich, die Adsorptionsanalyse auch zur Untersuchung pharmazeutisch-galenischer Präparate zu benutzen. In der Tat konnte Valentin[8]) zeigen, daß die Methode erfolgversprechend angewandt werden kann. Nachfolgende Arbeiten von Franck[9]), Merz und Franck[9]) sowie Valentin[10]) bewiesen den Wert der Methode an alkaloidführenden Drogen. Neugebauer und Brunner[11]) benutzten die Adsorptionsanalyse zur Charakterisierung homöopatischer, alkaloidführender Drogen.

Unabhängig von den bereits zitierten Arbeiten auf pharmazeutischem Gebiet konnte ich ebenfalls feststellen, daß bei der chromatographischen Adsorption von homöopatischen, alkaloidhaltigen Urtinkturen die Alkaloide mehr oder weniger rein von ihren Begleitstoffen getrennt werden und der quantitativen Bestimmung zugeführt werden können. Mit der Feststellung dieser Tatsache ist auch gleichzeitig der Übelstand des großen Materialverbrauchs der üblichen Untersuchungsmethoden behoben, denn gerade die Anwendung kleiner Tinkturmengen läßt die Abtrennung der Wirkstoffe am besten gelingen.

Die eigentliche Gehaltsbestimmung mußte nun andere Wege gehen, denn eine titrimetrische oder gravimetrische Erfassung der kleinen Substanzmengen erschien ohne größere Fehler nicht mehr möglich. Es wurde daher versucht, die einzelnen Alkaloide kolorimetrisch zu bestimmen, wie es bei anderen, besonders medizinisch-chemischen Mikrountersuchungen, vielfach mit gutem Erfolg, durchgeführt wurde. Auch Alkaloide wurden schon mittels optischer Verfahren erfaßt[12]), jedoch meist auf nephelometrischem Wege, während ich in der vorliegenden Arbeit versuchte die Eigenfarbe oder die Alkaloidfarbreaktionen quantitativ auszuwerten. Für die kolometrischen Bestimmungen, deren Grundlage das Lambert-Beer'sche Gesetz bildet, wurde der Zeiß-Stufenphotometer benutzt.

---

4) Helv. chim. acta 11, 87, 116, 123 144 (1928).
5) H. 230, 146 (1934); Nat. wiss. 22, 237 (1934).
7) Klein: Handbuch der Pflanzenanalyse IV/1403—37, Wien 1933.
6) Helv. chim. acta 18, 624 (1934), 19, 64 (1936).
8) Pharm. Ztg. 80, 469 (1935).
9) Arch. Charm. 275, 345 (1937), 275, 125 (1937).
10) Pharm. Ztg. 82, 527 (1937), 81, 943 (1936).
11) Pharm. ZBl. 11, 161 (1938).
12) Südd. Ap. Ztg. 74 (1934). Siehe aus Zeiß-Jena, Mess.: 4311/Me.

Die Vorteile der kolorimetrischen Methode sind außerordentliche. Die quantitativen Bestimmungen können meist im Bruchteil der bisher benötigten Zeit und mit sehr kleinen Mengen durchgeführt werden. Die entstehenden Fehler sind mehr oder weniger subjektiv, bewegen sich jedoch bei einiger Übung mindestens in den zulässigen Grenzen.

Mittels der beschriebenen Methoden wurden folgende Urtinkturen untersucht und ihre Inhaltsstoffe quantitativ bestimmt:

1. Hydrastis Urtinktur,
2. Berberis vulgaris Urtinktur,
3. Berberis aquifolia Urtinktur,
4. Colchicum Urtinktur,
5. Jaborandi Urtinktur.

Qualitative Untersuchungen.

Wird eine Hydrastis Urtinktur über Al_2O_3 chromatographiert und mit 60%igem Alkohol ausgewaschen, so erhält man ein klares, rein gelb-gefärbtes Eluat, in dem sich beim Aufarbeiten die Hauptalkaloide Berberin und Hydrastin einwandfrei nachweisen lassen. Es war nun für eine quantitative Ermittlung wichtig zu erfahren, ob und wie weit eine Trennung derselben mittels der Chromatographie durchzuführen ist. Diese Frage wurde bisher offengelassen, wenn auch Neugebauer und Brunner[13]) bei Colombo Urtinktur eine teilweise Trennung von Jatrorrhizin und Palmatin feststellen konnten.

In seiner Arbeit über chromatographische Adsorption stellte Franck (l. c.) in Übereinstimmung mit eigenen und den unten[13]) zitierten Versuchen fest, daß die Alkaloide im Eluat in den meisten Fällen als Basen und nicht mehr als pflanzensaure Salze vorliegen. Die Frage ist nun, ob diese Tatsache auf einer adsorption Anionen- und Kationentrennung beruht oder auf die Basizität des verwandten Aluminiumoxyds und einer damit verbundenen Verdrängung der schwächeren Alkaloidbase zurückzuführen ist. Schwab und Jockers[14]) geben in ihrer Arbeit für Al_2O_3 das überraschend hohe p_H von 9,4 an. Eigene Versuche ergaben ein kolorimetrisch

[13]) Pharm. Zentralhalle 11 (1938).
[14]) A. 28, 546 (1937).

ermitteltes[15]) p_H von 9,45 in guter Übereinstimmung. Vergleicht man damit die p_H-Werte einiger Alkaloidbasen (nach J. M. Kolthoff[16]) und zum Teil selbst annähernd bestimmt), so zeigt sich, daß diese Werte in den meisten Fällen kleiner und nur bei besonders starken Basen größer als der p_H-Wert von Aluminiumoxyd sind.

Alkaloid	p_H Salz	p_H Base
Atropinsulfat	5,4 —5,9	9,5
Chinin-Hydrochlorid	2,8 —3,3	4,0
„ bas. Salz	6,3	7,8
Hydrastin-Chlorid	3,75—4,25	6,26
Berberin-Chlorid	6,9 —6,95	10,0
Sanguinarin-Chlorid	—	8,6
Pilocarpin-Chlorid	1,35—1,85	2,6
„ bas. Salz	4,35	6,7
Colchicin	3,3	sehr schwache Base

So liegen die Werte von Atropin, Hydrastinin und Berberin über dem p_H des Aluminiumoxyds, die der übrigen Basen darunter, und man dürfte nun theoretisch annehmen, daß sich aus diesen Beziehungen das Verhalten der Alkaloide, d. h. ihr Vorliegen als Salz oder als Base im Eluat, erklären ließe. Dies scheint auch der Fall zu sein, denn die genuinen Alkaloidsalze verhalten sich während der Adsorption der Theorie entsprechend.

In der Praxis ergibt sich jedoch ein Widerspruch, denn es steht fest, daß reine Atropin- und Hyoscyaminsalzlösungen die Säule als Basen verlassen.

Um diesen Widerspruch zu erklären, mußte zunächst gezeigt werden, daß das Verhalten von Berberin kein Zufall ist, wie es schien, und weiterhin mußte eine Erklärung für das Verhalten der Belladonna-Alkaloide gefunden werden, denn es erschien sehr wahrscheinlich, daß die Zerlegung des Atropinsulfats der natürliche Zustand ist. Deshalb wurde an einer größeren Anzahl Alkaloide das Verhalten während der Adsorption geprüft und bereits vorliegende Erfahrungen einer Nachprüfung unterzogen. Das Ergebnis ist aus folgender Tabelle zu ersehen:

aufgegeben als Salz:

[15]) Biol. Ztschr. 254, 362 (1932).
[16]) Bioch. Ztschr. 162 (1925).

Im Eluat als Salz	als Base	
—	+	Atropin
—	+	Chinin
—	+	Hydrastin
+	—	Hydrastinin
+	—	Berberin
—	+	Sanguinarin
—	+	Pilocarpin
—	+	Colchicin
—	+	Hyoscyamin
—	+	Jatrorrhizin

Dabei fand ich, daß das Verhalten des Berberins ganz offenbar keine Ausnahme bildet, denn die Salze der ebenfalls starken Base Hydrastinin (p_H 10,26) werden auch nicht zerlegt. Ferner fand ich, daß auch die Belladonna-Alkaloide durch ein nochmaliges Chromatographieren zerlegt werden, analog dem Verhalten der reinen Salzlösungen des Atropins und Hyoscyamins. Gegen die Theorie steht also die Tatsache, daß Atropinsalze überhaupt gespalten werden, obwohl dies theoretisch nicht möglich sein dürfte. Beim Vergleich der p_H-Werte von Atropin und Aluminiumoxyd fällt jedoch auf, daß sie nur um 0,1 differieren. Dies führt zwanglos zur Annahme, daß durch etwaige Meßfehler die Wasserstoffionenkonzentration des Atropins nicht über, sondern unter des Al_2O_3 liegt.

Zur notwendigen zweiten Adsorption der Belladonna-Alkaloide ist zu sagen, daß hier bei Anwendung größerer Tinkturmengen ein Mißverhältnis zwischen Adsorbens und Adsorbat vorliegen muß, denn die Spaltung der Salze durch einmalige Adsorption ist bei Verwendung größerer Aluminiumoxyd- bzw. kleinerer Tinkturenmengen zu erzielen.

Als letzten Beweis für die Abhängigkeit der Ergebnisse vom p_H machte ich einige Versuche mit einem Al_2O_3 vom p_H-Wert 6,2, das ich aus der gewöhnlichen Sorte durch Behandeln mit Salzsäure und nachfolgendem gründlichen Auswaschen und Schlämmen mit destilliertem Wasser erhielt. Dabei gingen alle jene Alkaloide, deren p_H-Werte über 6,2 lagen, als Salze ins Eluat.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß bezüglich des Verhaltens der Alkaloide während der Adsorption primär die Wasserstoffionenkonzentration der Base bzw. des Adsorbens maß-

gebend ist, und daß dann in zweiter Linie die verchiedenen Adsorptionsaffinitäten ihren Einfluß auf Zonenbreite und Verteilung der Basen geltend machen. Daß auch dabei das p_H eine Rolle spielt, möge man aus den Versuchsergebnissen von Koschara[17]) schließen.

Die Frage einer Trennung der Alkaloide wurde zunächst an einem künstlichen Alkaloidsalzgemisch untersucht.

Hydrastin- und Berberinsalz wurden, analog der Lösungsart in der Tinktur, in 60%igem Alkohol gelöst und chromatographiert. Beim Arbeiten mit alkoholischen Lösungen ist allerdings die Trennung unwahrscheinlich, da die adsorptionshindernde Eigenschaft von Alkoholen hinreichend bekannt ist. Die Beobachtung eines solchen Trennungsversuchs im Tageslicht und unter der Quarzlampe ergab bei einem Hydrastin-Berberin-Gemisch in Alkohol, daß die Trennung zwar präformiert, jedoch nicht sauber durchzuführen ist. Die Anwendung weniger universeller Elutionsflüssigkeiten schien größere Aussicht auf Erfolg zu haben. Die besten Erfahrungen wurden mit Äther gemacht und die zur Trennung und Isolierung benötigte große Menge durch Zugabe von 10%igem Methanol auf ein Mindestmaß herabgedrückt. Dabei bleibt das Berberin erwartungsgemäß adsorbiert, während das Hydrastin als Base im Eluat vorliegt und unter der Quarzlampe nach Spaltung in Hydrastinin als solches nachgewiesen werden kann. Außerdem machte ich die Beobachtung, daß durch Zugabe kleiner Mengen Alkali oder Puffergemischen und anschließendem Auswaschen die Trennung noch schärfer durchzuführen ist und die Menge der Elutionsflüssigkeit noch weiter herabgesetzt werden kann. Weiterhin ist darauf zu achten, daß die Menge des Adsorptionsgutes den Ausmaßen der Adsorptionssäule angepaßt ist, da sich sonst die Zonen leicht überschneiden.

Nun liegen die Verhältnisse gerade bei dem angeführten Beispiel außerordentlich günstig, da Hydrastin in die ätherlösliche Base überführt wird, wogegen Berberin als Salz adsorbiert bleibt und im Elutionsmittel schlechter löslich ist. Jedoch ergeben sich aus diesen Zusammenhängen auch die Möglichkeiten zur Trennung anderer Alkaloidgemische.

---

[17]) H. 239, 89.

Quantitative Untersuchungen.

Hydrastis canadensis.

Wie bereits gesagt, gelingt die Trennung der Hauptalkaloide von Hydrastis, und so wurde versucht, dieselbe auch in der Urtinktur durchzuführen. In der Literatur werden unter anderen Inhaltsbestandteilen die Hauptalkaloide Berberin und Hydrastin sowie die Nebenalkaloide Canadin (Tetrahydroberberin) und Mekonin angegeben. Der bereits ermittelte Weg erwies sich auch hier als gangbar, d. h es wurden chromatographisch reine Fraktionen von Hydrastin und Berberin erhalten. Den unter der Quarzlampe sichtbaren Zonen entsprechend wurden verschiedene Eluate erhalten und getrennt auf Identität untersucht. Dabei wurde als erste Fraktion reines Hydrastin erhalten und mittels bekannter Reaktionen nachgewiesen. Die Eluate der folgenden Zonen wurden ebenfalls auf Alkaloidgehalt geprüft (Nebenalkaloide), jedoch mit teilweise negativem Erfolg. Zwar wurde in einem Fall eine schwache Alkaloidfällung erreicht, jedoch gelang es bei den kleinen Mengen weder auf Grund der Lumineszenserscheinungen noch durch Identitätsproben den Charakter der Base eindeutig festzustellen.

Das isolierte Hydrastin wurde dann durch Titration mit n/50 Natronlauge und das Berberin nach Überführung in das Chlorid kolorimetrisch bestimmt.

Die folgende Tabelle gibt die gefundenen Werte im Vergleich zu denen anderer Methoden wieder. Die quantitative Isolierung der Alkaloide wurde durch Kontrollversuche sichergestellt.

Tinktur	Alkaloid		H. A. B.	D. A. B.$_6$	chromatographisch isoliert	
					kolorimetrisch	titrimetrisch
			%	%	%	%
Urtinktur	Hydrastin	1	0,244	0,308		0,315
	„	2	0,239	0,312		0,309
	„	3	0,231	0,304		0,291
Evakolat	„	1	0,27	0,365		0,37
Urtinktur	Berberin	1	0,34		0,418	
	„	2	0,39		0,416	
	„	3	0,41		0,426	
Evakolat	„	1	0,5		0,58	

Eine Tinktur bekannten Gehalts wurde mit einer bestimmten Menge reinem Alkaloidsalz versetzt und die Gehaltsbestimmung in

der angegebenen Weise durchgeführt. Es zeigte sich, daß der ermittelte Wert um den Betrag höher war, der der zugegebenen Menge entspricht.

Kontrollversuche.

Hydrastin		Berberin	
Urtinktur = 0,30% + Hydrastin 0,1% = 0,40%		Urtinktur = 0,42% + Berberin 0,1% = 0,52%	
Versuch 1	0,39%	Versuch 1	0,518%
„ 2	0,37%	„ 2	0,52 %
„ 3	0,37%	„ 3	0,519%

Berberis vulgaris.

Bei Berberis handelt es sich, wie bei Hydrastis, um ein Alkaloidgemisch und zwar werden auf Grund des von Späth und Polgar[18]) durchgeführten Trennungsganges folgende Einzelalkaloide angegeben: 1) Berberin, 2) Columbamin, 3) Jatrorrhizin, 4) Oxyacanthin, 5) Palmatin und 6) Berberubin.

Werden einige cm³ Berberis vulg. Urtinktur langsam durch die Aluminiumoxydschicht des Adsorptionsrohres gesaugt, so bekommt man zunächst ein wenig einer gelben und beim weiteren Eluieren mit Alkohol eine größere Menge einer kirschroten Fraktion, in der außer Berberin die anderen Basen zu finden sind. Wird nun das rote Eluat etwas eingeengt und wieder in der gleichen Weise behandelt, so erhält man abermals zwei Fraktionen und so fort, bis nach mehrmaligem Chromatographieren die Isolierung des Berberins vollzogen ist. Auch hier bestätigt sich das bei Hydrastis Gesagte, daß nämlich die Trennung eines Alkaloidgemisches aus alkoholischen Lösungen sehr erschwert ist. Wenn auch diese Methode zur praktischen Anwendung wegen der Umständlichkeit nicht geeignet ist, so zeigt sie doch zum wenigsten, daß eine grobe Trennung durchzuführen ist. Unter Berücksichtigung der verschiedenen, durch Späth und Polgar (l. c.) bekannt gewordenen Eigenschaften der vorliegenden Basen wurde dann folgender brauchbarer Trennungsgang ausgearbeitet.

Einige cm³ Berberis vulgaris Urtinktur werden mit wenigen Tropfen Salzsäure zur Bildung der Chloride und Hydrochloride versetzt und dann mit conc. Ammoniakflüssigkeit gerade alkalisch gemacht, was sich durch einen Umschlag von Gelb nach Rot zu

[18]) Monatsschrift f. Chemie 52, 117 (1929).

erkennen gibt. Hierduch werden die Salze der quaternären phenolichen und der tertiären Basen zerlegt, während die Salze der quaternären Basen, insbesondere des Berberins, unverändert bleiben. Die so vorbehandelte Tinktur wird nun auf die Säule gebracht und mit einer Äther-Methanolmischung (9 + 1) solange ausgewaschen, bis sich die gut sichtbare gelbe Berberinzone im Unterteil der Adsorptionssäule befindet. Das Eluat ist farblos. Dann wechselt man die Elutionsflüssigkeit und entwickelt solange mit Methanol, als das Eluat noch gelb gefärbt erscheint. Nach Entfernung des Berberins eluiert man schließlich noch mit wenig 60%igem Alkohol und erhält eine dritte, rote Fraktion. Die Frage war nun, welche Alkaloide in den einzelnen Eluaten vorliegen, und ob der Reinheitsgrad des isolierten Berberins kolorimetrischen Ansprüchen genügte. Es wurden daher die einzelnen Fraktionen sowie die Kristallform, das Pikrat, das Tetrahydroprodukt und das Verhalten des Berberins bei einer zweiten Adsorption unter der Quarzlampe untersucht. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse läßt sich sagen, daß eine Trennung auf dem angegebenen Wege möglich ist, und daß darüber hinaus eine Bestimmung der anderen Basen in Frage kommt. Das erhaltene Berberin ist nicht vollkommen rein; dies wäre auch durch eine zweite Adsorption zu erreichen. Es wird jedoch quantitativ erhalten und unterscheidet sich von einem auf dem üblichen Wege erhaltenen nicht. Die Bestimmung der Nebenbasen kann dann unter Bezugnahme auf ein mittleres Molekulargewicht erfolgen oder besser in der Ätherfraktion titrimetrisch als Oxyacanthin und in der roten Fraktion als Jatrorrhizin, das offenbar noch allein vorhanden ist.

Die quantitative Bestimmung des Berberins wird genau wie bei Hydrastis beschrieben durchgeführt.

Die Ergebnisse sind aus folgenden Tabellen ersichtlich:

Tinktur	Alkaloid		H. A. B.	chromatographisch isoliert	
				kolorimetrisch	titrimetrisch
			%	%	%
Urtinktur	Berberin	1	0,36	0,41	
		2	0,34	0,408	
		3	0,37	0,41	
	Oxyacanthin (Nebenbasen)	1			0,21
		2			0,23
	Jatrorrhizin	1			0,13
		2			0,14

Kontrollversuche.

Urtinktur = 0,41% + Berberin 0,1%	= 0,51%
Versuch 1	0,51 %
„ 2	0,508%
„ 3	0,512%

Berberis aquifolium Urtinktur.

Berberis aquifolium Urtinktur enthält im wesentlichen die gleichen Alkaloide wie Berberis vulgaris, so daß sich für diese Urtinktur die gleiche Arbeitsweise wie für Berberis vulgaris ergibt. Im Gegensatz zu Berberis vulgaris konnte Jatrorrhizin nicht gefunden werden.

Es wurde hier nur Wert auf die Bestimmung des Berberins gelegt.

Tinktur		chromatographisch isoliert kolorimetrisch
Urtinktur	1	0,315%
	2	0,319%

Chelidonium Urtinktur.

Der Berberingehalt ist hier sehr gering, so daß die für die anderen Berberin führenden Drogen geltende Gehaltsbestimmung nicht ausgeführt werden kann.

Colchicum Urtinktur.

Wie bei den übrigen alkaloidhaltigen Tinkturen, so wird auch bei Colchicum das Colchicin beim Chromatographieren quantitativ isoliert. Da hier nur ein Alkaloid vorliegt, waren die zu lösenden Schwierigkeiten von vornherein nicht so groß, so daß größter Wert auf die Reinheit des Alkaloids gelegt werden konnte, wobei sich wiederum zeigte, daß der Reinheitsgrad mit der Wahl des Elutionsmittels eng verknüpft ist. Während man z. B. bei dem Auswaschen mit 60%igem Alkohol oder schwächerem nur wenig Elutionsflüssigkeit braucht und ein Auswaschen in kurzer Zeit beendet ist, erfordert 95%iger Alkohol das Dreifache an Lösungsmitteln. Jedoch ist das mit 60%igem Alkohol isolierte Colchicin noch mit einem gelblichen Öl stark verunreinigt; das mit 95%igem erhaltene

ergibt eine wasserklare und nahezu farblose Lösung, deren Verdunstungsrückstand nur noch wenig Verunreinigungen aufweist. Man darf aus diesem etwas merkwürdigen Verhalten wohl schließen, daß Alkohol-Wassermischungen die Adsorption am meisten verhindern, also stark verunreinigte Eluate ergeben, während hochprozentiger Alkohol zu den spezifischeren Elutionsmitteln gezählt werden darf. Andere Waschflüssigkeiten wie Chloroform und Aceton versagten. An Reinheit waren die mit Äther-Methanol in der üblichen Mischung erzielten Eluate allen anderen weit überlegen, so daß diese Elutionsmethode allein für die Gehaltsbestimmung in Frage kommen konnte. Auch hier konnte ich die bisher benötigten großen Mengen Tinktur erheblich einschränken ohne Verluste befürchten zu müssen. Es erschien jedoch mehr als zweifelhaft, ob diese entsprechend kleinen Alkaloidmengen noch gravimetrisch erfaßt werden konnten. Da aus bekannten Gründen eine Titration des Colchicins nicht in Frage kommt versuchte ich die Farbreaktionen so zu gestalten, daß sie als Grundlage für eine kolorimetrische Gehaltsbestimmung dienen konnten. Es kamen von vornherein nur solche Reaktionen in Betracht, die neben einer genügenden Intensität auch eine gewisse Beständigkeit aufwiesen. Als Farbreaktionen werden in der Literatur angeführt:

a) Eine wässrige oder alkoholische Colchicinlösung färbt sich mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure intensiv gelb.

b) Wird Colchicin in wenig conc. Schwefelsäure gelöst und mit einem Tropfen Salpetersäure oder mit einem Körnchen Salpeter versetzt, so wird die ursprünglich gelbe Lösung über grün-blauviolett wieder gelb und schlägt nach Verdünnen und Übersättigen mit Natronlauge nach Rot um.

c) Wird eine Lösung von Colchicin in verdünnter Salzsäure eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt oder auch kurz aufgekocht, so entsteht nach Zugabe von verdünnter Eisenchloridlösung 1 : 100 eine intensive, je nach der Menge dunkel-hell olivgrüne Farbe.

d) Schwefelsäure mit einem Zusatz von Kaliumpermanganatlösung 1 : 200 färbt Colchicin aufeinanderfolgend rot, karmin, gelbgrün, gelb, farblos.

e) Konzentrierte Salpetersäure färbt Colchicin über violett-gelb.

Die Prüfung ergab, daß unter Berücksichtigung der Forderungen die zwei Reaktionen a und c übrig blieben. Von beiden Reaktionen erwies sich letztere als am besten geeignet, besonders deshalb, weil die spektrale Breite der grünen Farblösung den kolorimetrischen Ansprüchen am meisten gerecht wird. Daß hierbei statt des genuinen Alkaloids sein Verseifungsprodukt bestimmt wird ist gleichgültig, denn seine Menge hängt von der erstmals vorhandenen Menge Colchicin ab. Ein Fehler kann nur dann entstehen, wenn die Verseifung, etwa abhängig von der Alkaloid- oder Salzsäurekonzentration, unregelmäßig verläuft und keine reproduzierbaren Werte liefert. Versuche darüber ergaben, daß mindestens 2% Salzsäure zur quantitativen Verseifung notwendig sind. Ein Überschuß beeinträchtigt das Ergebnis nicht. Außerdem zeigte sich, daß die Verseifung in alkoholischer Lösung überhaupt nicht erfolgt, sondern erst mit zunehmender Wasserzugabe beginnt und schließlich in wässeriger Lösung zu Ende verläuft. Die Verseifung des Colchicins wurde bereits von Zeisel[19]) untersucht und festgestellt, daß Colchicein „neben einer geringen Menge einer schon von anderen beobachteten, in Wasser löslichen amorphen Substanz, in welcher ich das Chlorhydrat bezw. Sulfat einer neuen Base entdeckt habe", gebildet wird. Diese von ihm „Apocolchicein" genannte Verbindung färbt sich mit Eisenchlorid-Salzsäure, ebenso wie das Colchicein, grün. Die Bildung dieses Körpers und seinen Einfluß auf die Gehaltsbestimmung habe ich nicht näher untersucht. Einmal wegen der durch die geringe Menge nicht zu erwartenden Störung und zum anderen, da ich eine immer gleichmäßig verlaufende Verseifung beobachtete. Weiterhin mußte festgestellt werden, ob der Zusatz von Eisenchlorid bei der Konzentrationsermittlung störend wirkt, also durch zusätzliche Lichtabsorption einen höheren Colchicingehalt vortäuscht, und endlich, ob die minimalen Mengen des gelblichen Öls als Fehlerquelle in Betracht kommen. Auch hier konnte ich zeigen, daß dies nicht der Fall ist, da beide Male die spektrale Absorption in einem anderen Bereich liegt, d. h. daß eine Absorption bei dem verwandten Filter nicht festzustellen ist. Somit erübrigt sich auch eine etwaige Kompensation der Eigenfarbe des Reagens. Die mittels der beschriebenen Methode gefundenen Werte sind aus nachfolgender Tabelle zu ersehen.

Durch Kontrollbestimmungen wurde die quantitative Erfassung des Colchicins sichergestellt.

---

[19]) Sitzungsberichte d. k. Akad. Wissensch. math.-nat. wiss. Klasse, Wien 87 Abt. II Heft II.

Droge		H. A. B. %	D. A. B.$_6$ %		chromatographisch isoliert kolorimetrisch %
Urtinktur	1	0,099	0,091	1	0,083
	2	0,101	0,093	2	0,088
				3	0,086
				4	0,087
Semen Colchici	1	—	1,14	1	1,0

Die Kontrollbestimmung wurde durch Zugabe einer gewogenen Menge Colchicin zur Tinktur bekannten Gehalts und nachfolgender kolorimetrischen Bestimmung ausgeführt.

Urtinktur = 0,086% + Colchicin 0,003%	= 0,089%
Versuch 1	0,091%
„ 2	0,09 %
„ 3	0,09 %

Jaborandi Urtinktur.

In Jaborandi Urtinktur liegt ein Gemisch dreier Alkaloide vor: Pilocarpin, Isopilocarpin und Pilocarpidin. Das Hauptalkaloid ist Pilocarpin, und beansprucht neben Isopilocarpin pharmakologisch das meiste Interesse. Pilocarpidin ist am Gesamtalkaloidgehalt in nur geringem Maße beteiligt.

Das H. A. B. bestimmt die Alkaloide auf titrimetrischem Wege mit n/100 Säure unter Verwendung einer erheblichen Tinkturenmenge, die sich unter Beibehaltung der Methode auch kaum reduzieren läßt, ohne daß die Grenzen der Genauigkeit überschritten werden.

Nach den bisherigen Erfahrungen konnte gerechnet werden, daß eine kolorimetrische Bestimmungsmethode die Anwendung kleinerer Untersuchungsmengen ermöglicht.

Zur Isolierung der Alkaloide wurde auch in diesem Falle von der chromatographischen Adsorptionsanalyse Gebrauch gemacht. Einige Vorversuche zeigten, daß Pilocarpin und Isopilocarpin sich dem Verhalten der anderen bereits untersuchten Alkaloide anschließen, d. h. durch Alkohol mit Leichtigkeit ausgewaschen

werden können und im Eluat, entsprechend dem p_H, als Base vorliegen In gleicher Weise werden auch die Alkaloide aus der Tinktur isoliert und sind im Eluat, mit Chlorophyll verunreinigt, nachzuweisen. Nach Entfernung des Alkohols lassen sich Teile der Verunreinigungen mit Äther aus saurer Lösung ausschütteln.

Die Untersuchung der Farbreaktionen ergab zunächst die Brauchbarkeit zweier Methoden: der Reaktion nach Ekkert[20]), in der zu einer Pilocarpinlösung frisch zubereitete Nitroprussidnatriumlösung und n/1 Natronlauge gegeben wird, ein Gemisch, das sich dann nach einigem Stehen und nachfolgendem Ansäuern intensiv rot färbt, sowie die Reaktion nach Helch[20]), bei der sich durch Mischen einer Pilocarpinsalzlösung mit Bichromat, Säure und Wasserstoffperoyd ein in Benzol und Chloroform löslicher, blauer Farbstoff bildet. Von beiden ist die erste Reaktion wohl als spezifisch anzusehen, denn es ist bekannt, daß die Helch' sche Reaktion auch von anderen Stoffen gegeben wird. Dennoch fiel die Wahl auf die letztere; denn die Erfassungsgrenze ist wesentlich günstiger und außerdem schien das Vorhandensein anderer ebenso reagierender Stoffe sehr unwahrscheinlich. Bei der weiteren Prüfung zeigte sich, daß die Reaktion außer von Pilocarpin auch von Isopilocarpin gegeben wird. Über die Art des gebildeten Farbstoffs herrscht noch einige Unklarheit. Wasicky[21]) nimmt an, daß die entstandenen Oxydationsprodukte des Alkaloids die Überführung der gebildeten Überchromsäure in Benzol ermöglichen, was sonst nicht stattfindet. Die Überchromsäure löst sich nur in Äther. Frehrichs[22]) nimmt die Bildung eines Pilocarpinperchromats an, das sich mit blauer Farbe in den erwähnten Solventien löst. Ein derartiges Produkt wurde auch bereits in Substanz erhalten[23]). Zunächst mußte untersucht werden, unter welchen Bedingungen die Farbreaktion optimal erhalten wird. Dabei machte ich die Feststellung, daß die Reaktion sowohl in neutraler als auch in schwach saurer Lösung positiv ausfällt, während sie in alkalischem Milieu ausbleibt. Die Säurekonzentration darf dabei nicht zu hoch sein, denn die Farbtiefe der Lösung nimmt mit steigender Säuremenge ab und ist in starker Säure = 0.

Die günstigste Säurekonzentration ist n/10; hier wurde die stärkste Färbung erreicht.

Zur Festlegung der Eichkurve wurde die Reaktion mit Pilocarpinhydrochloridlösungen verschiedener Konzentration durchge-

---

20) K. H. Bauer: Analytische Chemie der Alkaloide.
21) Wasicky: Physiopharmakognosie.
22) Lehrbuch der Chemie für Pharmazeuten.
23) D. A. Z. (1933) 723. F. Biedebach.

führt. Als geeignetes Ausschüttelungsmittel wurde Chloroform genommen, das den Farbstoff nach einmaligem Schütteln quantitativ aufnimmt. Die Farbkurve der blauen Lösung zeigt Absorptionsmaxima bei 530 und 570 mμ, was der Verwendung der Filter S 53 und S 57 entspricht. Der Verlauf der Eichkurve bestätigt die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes, so daß die Bestimmung des Pilocarpins unbedenklich nach der kolorimetrischen Methode erfolgen kann. Die Erfassungsgrenze liegt bei etwa 0,0002 g Alkaloid.

In der folgenden Tabelle sind die ermittelten Werte im Vergleich zur Methode des H. A. B. angegeben.

Droge		H. A. B. %	chromatographisch isoliert. kolorimetrisch %
Urtinktur	1	0,061	0,062
	2	0,06	0,061
	3	0,062	0,061
Evakolat	1	0,065	0,066
Fol. Jaborandi	1	0,68	0,665

Die Kontrollversuche wurden in der bisher beschriebenen Weise durchgeführt:

Urtinktur = 0,0613% + Pilocarpin 0,005%	= 0,0663%
Versuch 1	0,065%
„ 2	0,066%
„ 3	0,064%

Im zweiten Teil wurde die Isolierung und quantitative Erfassung der Antrachinone in Rheum, Frangula und Rubia Urtinktur durchgeführt.

Die Wertbestimmung der Anthrachinon-haltigen Urtinkturen wurde nicht ins H. A. B. aufgenommen, offenbar, weil die bestehenden Methoden zu umständlich sind und als Ausgangsmaterial meist die Droge verwandt wird. Zwar ließen sich die Methoden auch leicht auf den Gebrauch der Urtinkturen umstellen, doch wird die Umständlichkeit dadurch nur größer. Die meist gebräuchliche Methode dürfte wohl die kolorimetrische Gehaltsbestimmung nach

Tschirch oder Daels[24]) sein, deren Nachteil die umständliche Reinigung der Anthrachinonkörper ist und außerdem sehr leicht falsche Werte liefert, da die Vergleichs-Chrysophansäurelösung, in der angegebenen Weise hergestellt, nur ganz kurze Zeit die Möglichkeit eines exakten Vergleichs bietet. Die Vorteile der Methode sind die einer kolorimetrischen Bestimmung überhaupt und es erwies sich nach einer eingehenden Prüfung der Bestimmung, daß eine prinzipielle Änderung der Vorschrift nicht notwendig ist.

Um die Möglichkeiten einer Kontrolle zu haben, wurde als erstes die Herstellung einer Eichkurve von Chrysophansäure, Emodin und Alizarin entsprechend den Agluka der Glukoside von Rheum, Frangula und Rubia Urtinkturen vorgenommen. Es wurden jeweils 1 bis 10 mg Substanz in geeigneten Alkalien gelöst und mit Hilfe des Zeiss-Photometers untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Lösung von Chrysophansäure in 5% Kalilauge, wie von Tschirch (l. c.) angegeben, bezüglich der Farbintensität nur etwa 1/4 Stunde konstant bleibt, so daß eine kolorimetrische Auswertung nicht erfolgen kann. Die Lösung in Ammoniakflüssigkeit zeigte bessere Konstanz, ist jedoch aus anderen Gründen nicht geeignet. Da die Inkonstanz der Kaliumhydroxydlösung auf den Einfluß der Kohlensäure der Luft zurückzuführen ist, schien die Verwendung einer alkoholischen Kalilauge aussichtsreich. Tatsächlich blieb eine derartige 5%ige Lösung längere Zeit hindurch unverändert und ermöglichte die Aufstellung einer Eichkurve, deren Verlauf den optischen Gesetzmäßigkeiten entspricht. Die Emodin-Eichkurve wurde aus einer sodaalkalischen Lösung ohne Schwierigkeiten erhalten, die Alizarinkurve aus 5%iger alkoholischer Kalilauge.

Die Untersuchung der Anthrachinon-haltigen Drogen wird nach dem Prinzip der Bornträgerschen Reaktion vorgenommen, die besagt, daß die Anthrachinonglukoside nach der Hydrolyse, aber nie vorher, an Äther, Chloroform, Benzol usw. einen gelben Stoff abgeben, der mit wässrigen Alkalien ausschüttelbar ist und sich darin mit roter bis violetter Farbe löst. Diese rote Lösung wird dann mit einer solchen bekannten Gehaltes einfach kolorimetrisch oder mit geeigneten Apparaten verglichen. Da bei der Hydrolyse aber außerdem Stoffe, wie z. B. die Tannoglukoside, gespalten werden und neben anderen in die lipoidlösliche Phase gehen, ist eine Reinigung der erhaltenen Auszüge notwendig, um den nachfolgenden kolorimetrischen Vergleich durchführen zu können. Da diese Reinigung recht umständlich und zeitraubend ist, sollte versucht werden, dieselbe mit anderen Methoden in kürzerer Zeit zu bewerkstelligen. Hierfür wurde die chromatographische Adsorp-

[24]) Klein: Handbuch der Pflanzenanalyse.

tionsanalyse in Aussicht genommen. Diesbezügliche Versuche zeigten jedoch, wie vorauszusehen war, daß die Reinigung über Aluminiumoxyd nicht durchzuführen ist. Bekanntlich sind die Agluka der Anthrachinonglukoside Beizfarbstoffe und haben als solche besonders starke Adsorptionsaffinitäten zu Al_2O_3, so daß sich der Elution der adsorbierten Farbstoffe die größten Schwierigkeiten entgegenstellen. Die Elution ist nur in stark saurem Milieu durchzuführen, wobei das p_H des Adsorbens wiederum stark von der Art des Aglukons abhängig ist. So ist z. B. die Elution der Chrysophansäure schon in annähernd neutralem Gebiet möglich, während Emodin und Alizarin in steigendem Maße ein saures p_H verlangen. Ich versuchte deshalb, das Aluminiumoxyd durch weniger basische Adsorbentien zu ersetzen. Durch Hydrolyse und nachfolgendes Ausschütteln mit Chloroform wurde das Aglukon zunächst isoliert und dann an verschiedene Stoffe adsorbiert. Es wurden Kieselsäure, saure Bleicherden (Frankonit KL), Kieselgur u. a. als Füllmaterial der Röhren verwandt, ohne jedoch zu einem befriedigenden Ergebnis zu kommen. Stets wurden immer nur Teileluate erhalten, abgesehen davon, daß der Elutionsvorgang längere Zeit beanspruchte. Gute Erfahrungen wurden dagegen mit einem besonders präparierten Al_2O_3 gemacht, das durch Imprägnieren der gewöhnlichen Sorte mit 20%iger Salzsäure und anschließendem Trocknen bei gelinder Wärme hergestellt wurde. Das p_H des so behandelten Al_2O_3 liegt bei rund 3 und gestattet so das Arbeiten mit Anthrachinonen. Die Hydrolysenprodukte der Tannoglukoside und andere Stoffe werden in der obersten Zone festgehalten und das Eluat enthält die Anthrachinone in einer mit den üblichen Mitteln nicht weiter zu reinigenden Form. Eine vergleichende Gehaltsbestimmung zwischen der Methode nach Tschirch und einer derart gereinigten Substanz zeigte vollkommen übereinstimmende Werte. Zur Verwendung kamen 0,5 g Urtinktur.

Da nun eine Reinigung in jedem Falle zeitraubend ist, versuchte ich im weiteren Verlauf der Untersuchungen, die störenden Einflüsse durch geeignete Filterwahl zu kompensieren. Da diese Kompensation im Gebiet des Absorptionsmaximum meist am besten zu erreichen ist, wurden die Messungen mit Filter S 43 durchgeführt, dessen Bereich mit dem Maximum zusammenfällt. In der Tat stimmen die Ergebnisse der ohne weitere Reinigung durchgeführten Analysen mit den vorher erwähnten in durchaus befriedigendem Maße überein.

Zusammenfassend werden die Gehaltsbestimmungen folgendermaßen ausgeführt:

1. Rheum Urtinktur:

Nach der Hydrolyse von 0,5 g Rheum Urtinktur wird mit Chloroform ausgeschüttelt und der lebhaft gelben Lösung das Emodin mit Sodalösung und anschließend die Chrysophansäure mit Kalilauge entzogen. Ohne weitere Reinigung wird dann die Lichtdurchlässigkeit bestimmt und der Gehalt durch Vergleich mit der betreffenden Eichkurve ermittelt.

2. Frangula Urtinktur:

Auch hier wird nach vorheriger Hydrolyse die gelbe Chloroformlösung mit Sodalösung ausgeschüttelt und das Emodin bestimmt.

3. Rubia tinctorum Urtinktur:

In gleicher Weise wird das gebildete Alizarin nach dem Ausschütteln in Kalilauge gelöst und der Gehalt mittels der Eichkurve bestimmt.

Tinktur	nach Tschirch kol. %	über Al_2O_3 gereinigt kol. %	ungereinigt kol. %
Rheum Urtinktur			
Chrysophansäure	0,1	0,1	0,105
Emodin	0,18	0,18	0,185
Frangula Urtinktur			
Emodin	0,146	0,147	0,15
Rubia Urtinktur	0,15	0,151	0,159

Praktischer Teil.

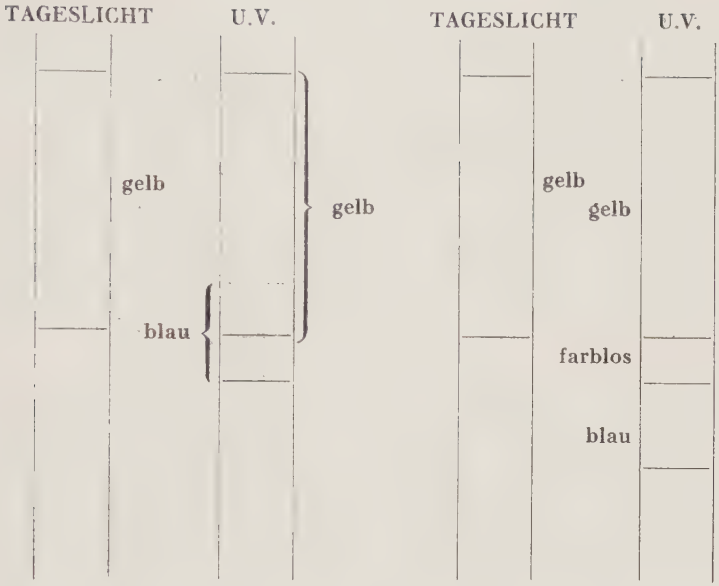
Die für die Adsorptionsanalyse benötigte Apparatur setzt sich, in Anlehnung an die von anderen Autoren gemachten Angaben, in der üblichen Weise zusammen. An die Adsorptionsröhren, deren Maße 20 cm/1,0 cm betragen und aus Jenaer Glas gefertigt sind, wurde ein 10 cm langes, dünneres Glas angeschmolzen und zwischen beide ein Glassinterfilter angebracht. Auf die Ausführung in Ulvioglas wurde wegen der geringen Eigenluminiszenz unter der Quarzlampe verzichtet. Das Adsorptionsrohr sitzt mittels Gummistopfen auf einem graduierten Schüttelzylinder mit seitlich-oben angebrachter Absaugolive. Die ganze Apparatur steht mit einem großen Vakuumexsikkator über einen Dreiwegehahn in Verbindung, wodurch ein gleichmäßiges, nicht zu starkes Vakuum erreicht wird.

Adsorbens.

Als Füllmaterial der Röhren wurde in Übereinstimmung mit den Erfahrungen anderer Aluminiumoxyd pur. pro analysi Merck als am besten geeignet gefunden und verwandt. Unbrauchbar war diese Sorte lediglich bei der Arbeit mit Anthrachinondrogen, wo sich das hohe p_H störend bemerkbar machte. Versuche mit anderen Adsorbentien zeigten eine bedingte Tauglichkeit einzelner Kieselsäuresorten, die jedoch meist wegen ihrer feindispersen Form die Elution sehr verzögerten. Am besten hat sich hier ein HCl-haltiges Al_2O_3 bewährt, das man, wie folgt, herstellt: Eine größere Menge Al_2O_3 wird mit verdünnter 20%iger Salzsäure übergossen, umgerührt und nach einigem Stehen scharf abgesaugt. Das Pulver wird bei mäßiger Wärme getrocknet.

Versuch einer Trennung von Berberin und Hydrastin.

0,05 g Berberin und die gleiche Menge Hydrastin wurden in 5 cm^3 Alkohol gelöst, unter schwachem Saugen an Al_2O_3 adsorbiert und mit 60%igem Alkohol entwickelt. Die Beobachtung unter der Quarzlampe zeigte unter einer intensiv gelben Zone eine blaue Lumineszenz, die durch weiteres Auswaschen nicht voneinander getrennt werden konnten. Das Eluat war gelb gefärbt.



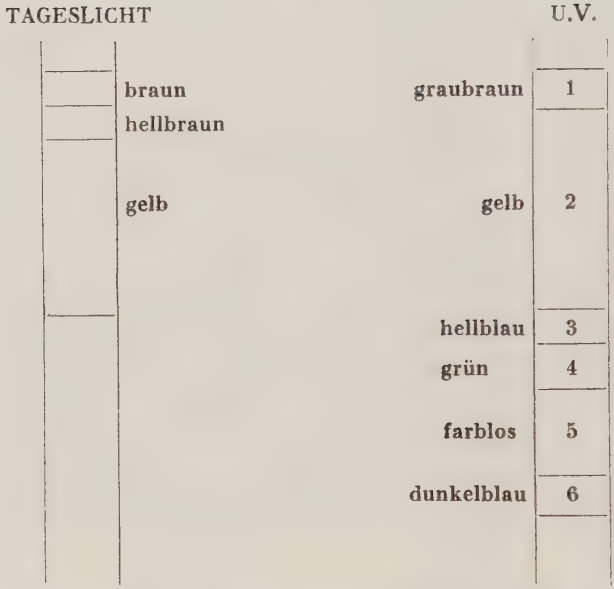
Ein zweiter Versuch wurde in gleicher Weise durchgeführt, als Elutionsmittel jedoch eine Äther-Methanolmischung 9 + 1 verwandt. Die Trennung der beiden Alkaloide konnte unter der Quarzlampe sehr gut beobachtet werden.

Durch Zugabe von wenigen Tropfen Ammoniakflüssigkeit zur Alkaloidlösung wurden die Zonen während des Auswaschens noch schärfer getrennt.

Trennung von Berberin und Hydrastin in der Urtinktur.

1,0 g Hydrastis Urtinktur wurde mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt und mit Ammoniakflüssigkeit alkalisch gemacht, auf die Adsorptionssäule gegeben und mit einer Äther-Methanolmischung 9 + 1 ausgewaschen. Unter der Quarzlampe wurden folgende Zonen beobachtet:

Die blaue Zone 6 verschwand zuerst und ergab ein blau lumineszierendes Eluat = 20 cm^3. Mit weiteren 10 cm^3 wurde die grünliche Zone 4 abgetrennt und nach insgesamt 50 cm^3 Verbrauch war die hellblaue Zone 3 ebenfalls ausgewaschen. Die leuchtend gelbe Zone 2 wanderte während des Elutionsvorganges



langsam nach unten, ohne die Säule zu verlassen. Die Prüfung der getrennt aufgefangenen Eluate wurde folgendermaßen vorgenommen.

Die Ätherlösungen schüttelte ich mit 1%iger Schwefelsäure aus, verjagte den Äther und versetzte einen Teil der Lösungen mit Quecksilberjodjodkali. In Eluat 1 entstand eine Fällung, in den übrigen zwei nicht. Durch Einengen der Ausschüttelungen konnte im Eluat 3 ebenfalls eine Trübung erzielt werden. Der Nachweis des Hydrastins aus Zone 6 gelang mittels der im D. A. .B 6 angeführten Reaktion. Die schwefelsaure Lösung wurde tropfenweise mit verdünnter Kaliumpermanganatlösung bis zur gerade noch verschwindenden Rosafärbung versetzt. Bei Anwesenheit von Hydrastin ist eine deutliche, blaue Fluoreszenz festzustellen. Die Probe fiel positiv aus. Ebenso wurde das entstandene Hydrastinin unter der Quarzlampe als solches erkannt, da weder durch Hydrierung noch durch Oxydation des Hydrastinins die Fluoreszenz ausgelöscht werden konnte und außerdem die Lösung noch in sehr starker Verdünnung eine deutliche Fluoreszenz zeigte.

Bei dem Alkaloid aus Zone 3 dürfte es sich vermutlich um Canadin handeln, da künstlich hergestelltes Canadin (durch Hydrierung von Berberin nach der Vorschrift von Späth und Polgar hergestellt (l. c.)) die gleiche Farbe unter der Quarzlampe

hatte. Die von Neugebauer und Brunner festgestellte gelbliche Lumineszenz des Alkaloids konnte ich nicht beobachten. Die Reaktion auf Hydrastin verlief jedenfalls negativ.

Zone 4 ließ sich nicht identifizieren. Es ist sehr fraglich, ob es sich hier überhaupt um ein Alkaloid handelt.

Zur quantitativen Bestimmung des Hydrastins wurde die äther-alkoholische Lösung abdestilliert, der Rückstand mit n/50 Salzsäure aufgenommen und mit n/50 Kalilauge unter Verwendung von Methylorange als Indikator zurücktitriert. Die ermittelten Werte lagen sehr nahe zusammen und entsprechen dem nach dem D. A. B. 6 bestimmten Hydrastingehalt.

Berberinbestimmung.

Das in der Säule als Chlorid vorliegende Berberin wurde mit 15 cm³ vergälltem 95%igen Alkohol[25]) restlos ausgewaschen und mit dem gleichen Alkohol auf genau 100 g gebracht. Die Bestimmungsmethode nach dem H. A. B. liefert wegen der Löslichkeit des Berberinpikrolonats in der Waschflüssigkeit wenig übereinstimmende Werte. Außerdem wird das Alkaloid durch Versetzen mit Natronlauge und folgendem Ausäthern nicht quantitativ erfaßt.

Es erschien aussichtsreich, die intensive Eigenfarbe des Berberins zur kolorimetrischen Bestimmung zu benutzen. Hierzu war es notwendig, ein besonders reines Berberin zu haben, denn aus dem Farbumschlag des Merck'schen Berberins und dem anderer Firmen von gelb nach rot bei Zugabe von Natronlauge konnte auf das Vorhandensein noch anderer Basen (Jatrorrhizin) geschlossen werden. Die Verunreinigung läßt sich außer unter der Quarzlampe auch sehr gut zeigen, wenn man eine wässerige Berberinchloridlösung ammoniakalisch macht, chromatographiert und mit Chloroform entwickelt. Es bildet sich eine schmale intensiv rote Zone, die ziemlich fest haftet, während das rein gelbe Berberinchlorid langsam nach unten wandert.

Folgende Kontrollbestimmungen zeigen die Notwendigkeit einer verbesserten Methode:

Methode des H. A. B.

Einwage		Gefunden	
1. 0,07052	Berberinchlorid	0,04158	Berberinchlorid
2. 0,0678	„	0,0419	„
3. 0,07352	„	0,03616	„
4. 0,06706	„	0,04071	„

Von Wert 3 abgesehen, ergibt sich eine Differenz zur Einwage von 35,4% bis 41,8% Berberin.

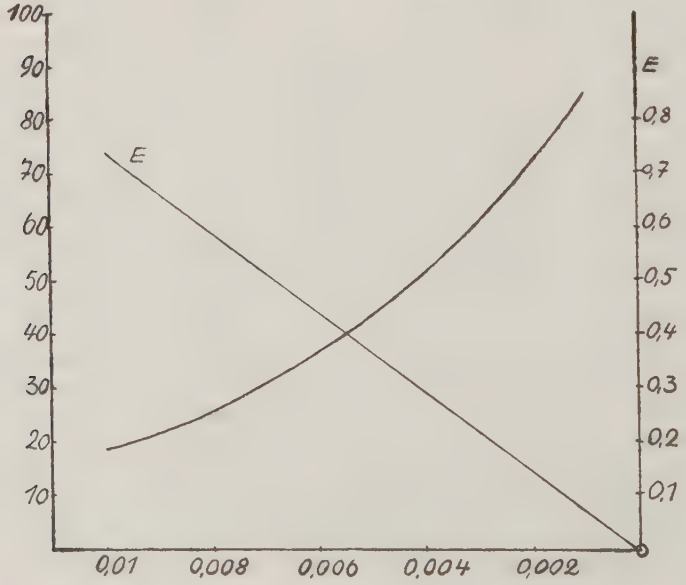
Aus einem chromatographisch reinen Berberinchlorid, das ich aus der Handelsware durch Fällen der Base, Ausäthern und

[25]) 1,3% Holzgeist.

Fällung mit Chlorwasserstoffgas und anschließender Reinigung über Al_2O_3 erhielt, stellte ich eine alkoholische Stammlösung von 0,01% her. Aus ihr fertigte ich durch Verdünnen weitere Lösungen mit den Konzentrationen 0,009 bis 0,001% und stellte nach bekanntem Verfahren eine Eichkurve her, deren Verlauf die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes beweist. Für die Messung ist Filter S 47 und die Schichtdicke s = 20 mm am besten geeignet. Im folgenden die gemessenen D%-Werte und die Kurve selbst.

Die Werte sind:

Konz. %	D %	E für 2 cm	$\frac{E}{s}$
0,01	18,6	0,731	0,3655
0,009	22,0	0,658	0,329
0,008	26,0	0,585	0,2925
0,007	30,6	0,514	0,207
0,006	36,5	0,438	0,219
0,005	43,0	0,367	0,1835
0,004	51,0	0,292	0,146
0,003	60,1	0,221	0,1105
0,002	71,5	0,146	0,073
0,001	84,2	0,075	0,0375
0,000	100,0	0,000	0.



Die Kurve wurde auf ein Berberinchlorid mit 8,84% Kristallwasser bezogen (2 Mol.). Die Angaben über Kristallwassergehalt in der Literatur schwanken zwischen 2 und 4 Mol, eine verständliche Tatsache, da sich das Berberin bei längerer Einwirkung höherer Temperaturen leicht zersetzt. Nach einer Mitteilung der Firma Merck „läßt sich die Kristallwasserbestimmung weder im Trokkenschrank bei 103° noch im Xylolapparat bestimmen, da hierbei unter Zersetzung zu hohe Werte erhalten werden. Im Vakuum über Magnesiumperchlorat und Phosphorpentoxyd wurden für das benutzte Berberinchlorid 8,3% Kristallwasser gefunden, entsprechend 8,84% der Theorie".

Zur Gehaltsbestimmung von Hydrastis canadensis Urtinktur werden 1,0 g der Urtinktur mit wenigen Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt und dann mit Ammoniakflüssigkeit gerade alkalisch gemacht. Das Gemisch wird quantitativ auf die Adsorptionssäule gebracht und nach erfolgtem Eindringen in die Schicht mit soviel einer Äther-Methanolmischung 9 + 1 ausgewaschen, daß 20 cm³ Eluat erhalten werden. Die Äther-Alkoholmischung wird dann abdestilliert, der Rückstand mit 5 cm³ $\frac{n}{50}$ Salzsäure aufgenommen und mit n/50 Kalilauge unter Verwendung von Methylorange als Indikator zurücktitriert, wobei 1 cm³ n/50 Salzsäure 0,007664 g Hydrastin entspricht. Das in der Säule verbliebene Berberin wird nun mit soviel vergälltem Alkohol ausgewaschen, als das Eluat noch gelb gefärbt erscheint, wozu etwa 15 cm³ benötigt werden. Die klare reingelbe Flüssigkeit wird nun mit dem gleichen Alkohol auf genau 100 g gebracht und damit eine Küvette von 20 mm Schichtdicke gefüllt. Nun wird gegen denselben Alkohol als Kompensationsflüssigkeit unter Verwendung von Filter S 47 an der entsprechenden Meßtrommel die Lichtdurchlässigkeit in % und mittels der Eichkurve die Berberinkonzentration abgelesen. Der so ermittelte Prozentgehalt an Berberinchlorid wird zur Umrechnung auf die Base mit dem Faktor 0,9064 (log. 0,5733 — 1) multipliziert und ergibt mal 100 den Prozentgehalt Berberin der Urtinktur.

Der Faktor errechnet sich wie folgt:

Berberin	: Berberinchlorid	=	x : 1
353,66	: 389,62	=	x : 1
x = 0,9064.			

Der Genauigkeit halber erfolgt die Ablesung an folgender Kurve mit logarithmischer Ordinatenteilung.

Berberinchlorid Filter S. 47, s = 20 mm, Faktor log 0,95783—1.

Als weiterer Beitrag zur Kenntnis des Berberins sei an dieser Stelle eine neue Verbindung, das Berberindichromat, erwähnt. Die Verbindung stellte ich aus wässeriger und aus alkoholischer Lösung der Salze als sehr schwer lösliche Verbindung durch Fällen mit n/10 Kaliumdichromatlösung her. Die Formel ist $C_{20}H_{18}O_4N \cdot H_2Cr_2O_7$.

Analysenergebnisse:

$H_2Cr_2O_7$-Gehalt

berechnet 0,02084 für 0,05 Berberinchlorid

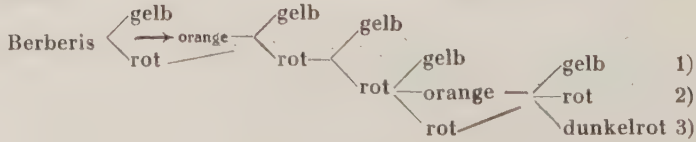
gefunden 0,02012 für 0,05 Berberinchlorid.

Kristallwassergehalt: 0%.

Die Verbindung ist schwer löslich in den gebräuchlichen Lösungsmitteln; durch Zugabe von Natronlauge und folgenden Ausäthern ist die Base zu regenerieren.

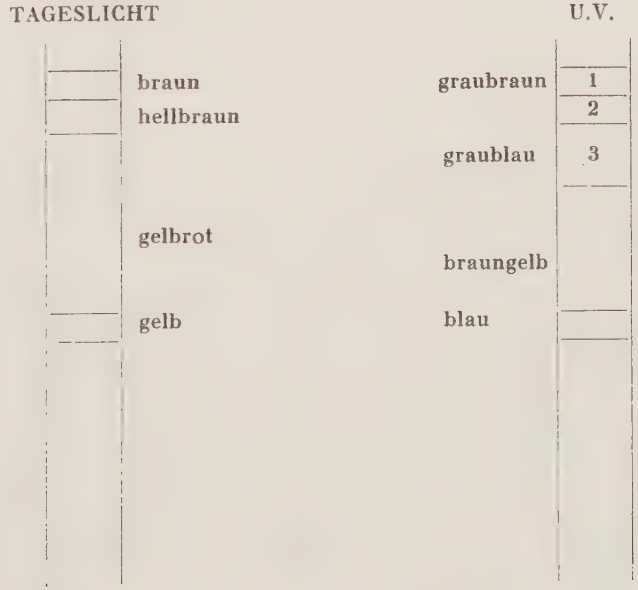
Berberis vulgaris Urtinktur.

Die Trennung der Alkaloide beim mehrmaligen Chromatographieren der Urtinktur läßt sich in folgendem Schema zusammenfassen:



Zur näheren Untersuchung der Basen wurden die Fällungen mit spezifischen Reagentien unter dem Miskroskop betrachtet. Von den Fraktionen 1—3 wurde je ein Tropfen auf einen Objektträger gebracht und mit 1% Salpetersäure versetzt. Es traten kristalline Fällungen auf, jedoch konnten nur im ersten Fall die charakteristischen Nadeln des Berberinnitrates gefunden werden. Die übrigen Fällungen waren mehr oder weniger mikrokristallin und zum Teil ohne besondere Form. Die Untersuchung der Kristallform der Jodide ergab das Vorhandensein von Jatrorrhizin besonders in 2 und 3, eine Fällung mit Kaliumbromid und deren Form ließ Oxyacanthin erkennen.

Der Elutionsvorgang unter der Quarzlampe betrachtet, zeigte folgendes Bild:



Der Nachweis der einzelnen Alkaloide in den Eluaten der eigentlichen Trennung wurde in derselben Weise durchgeführt. Der Elutionsvorgang unter der Quarzlampe ergab folgende Zonen:

Das Äther-Methanol-Eluat zeigte eine blaue Lumineszenz. Die Proben auf Oxyacanthin waren positiv. Das Vorhandensein von Columbamin ist wahrscheinlich, konnte jedoch mangels Vergleichsmaterial nicht genau geprüft werden.

Die gelbe Alkoholfraktion ergab sämtliche Reaktionen für Berberin. Die rote Fraktion enthielt sehr geringe Mengen Palmatin sowie reichlich Jatrorrhizin.

Da die Reinheit des isolierten Berberins für die kolorimetrische Bestimmung sehr wichtig ist, nahm ich eine zweite Adsorption und Elution vor, um etwaige Verunreinigungen unter der Quarzlampe feststellen zu können. Beim Auswaschen wurde eine breite intensiv gelbe Zone beobachtet, die schnell nach unten wanderte, während oben eine etwa 1 cm breite graugrüne Zone festhaftete. Nach Entfernung des Berberins blieb die ganze Säule dunkler gefärbt, zeigte jedoch keine spezifische Lumineszenz und war vor allem im Tageslicht farblos.

Außerdem stellte ich zur Prüfung auf Reinheit noch einige Derivate her.

Die gelbe Fraktion wurde mit 10 cm^3 Wasser versetzt und auf dem Wasserbad vom Alkohol befreit, dann mit verdünnter Essigsäure angesäuert, mit 1 cm^3 verdünnter Schwefelsäure und

1,0 Zinkstaub versetzt und auf dem Wasserbad solange erhitzt, bis die gelbe Lösung farblos war. Hierdurch wurden die Tetrahydroprodukte vorliegender Basen gebildet. Die Flüssigkeit wurde heiß filtriert, erkalten lassen, mit Ammoniak bis zur Lösung des ausgefallenen Zinkhydroxyds versetzt und mit Äther mehrfach ausgeschüttelt. Dann wurde der Äther abdestilliert, der Rückstand mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen und der Kristallisation überlassen. Die getrockneten Kristalle ergaben einen F. P. von 264°. Ein Kontrollschmelzpunkt zeigte 272°.

Das Berberinpikrat wurde durch Versetzen des wässerigen Berberineluates mit gesättigter Pikrinsäurelösung gewonnen. Die getrockneten Kristalle hatten einen F. P. von 234°, ein Kontrollschmelzpunkt zeigte 239°.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse läßt sich sagen, daß das chromatographisch isolierte Berberin nicht vollkommen rein ist, jedoch den gestellten Ansprüchen in kolorimetrischer Hinsicht in jeder Weise genügt.

Zur quantitativen Bestimmung der Alkaloide in Berberis vulgaris Urtinktur schlage ich somit folgenden Weg vor:

3,0 g Berberis Urtinktur werden genau abgewogen, mit wenigen Tropfen verdünnter Salzsäure angesäuert, darauf mit Ammoniakflüssigkeit gerade alkalisch gemacht, was sich in einem Farbumschlag von gelb nach rot äußert, und quantitativ auf die Adsorptionssäule gebracht. Nachdem die Flüssigkeit eingedrungen ist, wird mit einer Äther-Methanolmischung 9 + 1 solange ausgewaschen, bis die im Tageslicht gut sichtbare, gelbe Zone sich im Unterteil der Säule befindet. Das farblose Eluat wird gesondert aufgefangen, der Schüttelzylinder mit etwas Elutionsgemisch ausgespült und die vereinigten Flüssigkeiten zur Trockne abdestilliert. Der Rückstand wird mit n/50 Salzsäure aufgenommen und mit n/50 Kalilauge unter Verwendung von Methylrot als Indikator zurücktitriert, wobei 1 cm^3 Salzsäure 0,006082 g Oxyacanthin entspricht. Anschließend wird die Säule mit 95%igem, vergälltem Alkohol so lange ausgewaschen, als die Flüssigkeit noch gelb gefärbt abläuft. Das gelbe Eluat wird wieder getrennt aufgefangen, der Zylinder nachgewaschen und die vereinigten Flüssigkeiten mit demselben Alkohol auf genau 100 g gebracht. Im weiteren wird die Bestimmung so ausgeführt, wie bei Hydrastis beschrieben ist. Der Prozentgehalt an Berberin-Base mal $\frac{100}{3}$ ergibt den Prozentgehalt der Urtinktur.

Zur Bestimmung des Jatrorrhizins wird die Säule mit 60%igem, vergälltem Alkohol eluiert, das rote Eluat auf dem Wasser-

bad vom Alkohol befreit, mit 5 cm^3 destilliertem Wasser versetzt und mit n/50 Salzsäure ohne Indikator auf gelb titriert. Der Punkt, in dem alles Alkaloid als salzsaures Salz vorliegt, äußert sich in einem, innerhalb kleinem Intervall eintretenden, Umschlag von rot nach gelb. Hierbei entspricht 1 cm^3 n/50 Salzsäure 0,0071 g Jatrorrhizin.

Colchicum Urtinktur.

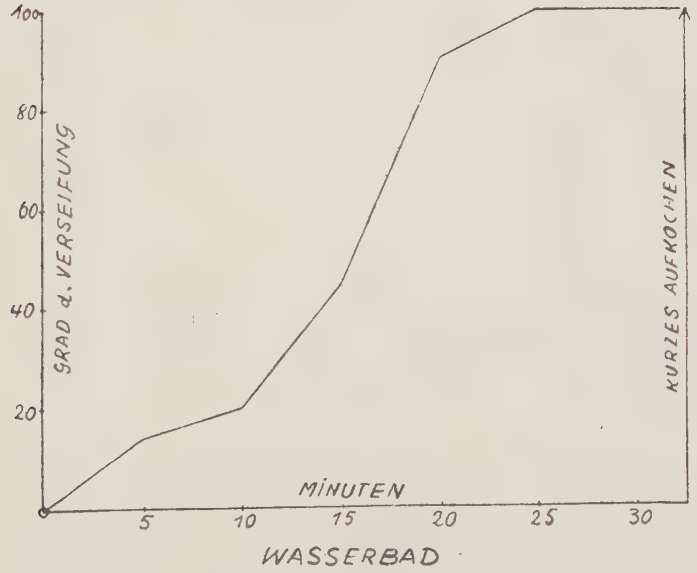
5,0 g Colchicum Urtinktur wurden auf die mit Al_2O_3 Merck gefüllte Adsorptionsröhre gegeben und mit 60%igem Alkohol (vergällt) entwickelt. Nach Zugabe von 40 g Alkohol war in der weiteren Waschflüssigkeit kein Alkaloid mehr nachzuweisen. Das Eluat war klar und gelb gefärbt und ergab positive Colchicinproben. Die Verunreinigungen bestanden zum Teil aus einem gelben Öl.

Der Elutionsvorgang, unter der Quarzlampe beobachtet, zeigte folgendes Bild:

Derselbe Versuch wurde einige Male unter Verwendung von Wasser, Chloroform und Aceton als Waschflüssigkeit wiederholt. Die Eluate waren ebenfalls für kolorimetrische Zwecke unbrauch-

bar. In weiteren Versuchen wurden 5 g Tinktur eingedampft, in 70%igem, 80%igem, 90%igem und 95%igem Alkohol gelöst und mit Alkohol gleichen Prozentgehaltes chromatographiert. Die Eluate bis 90% waren noch gefärbt, mit 90% nur schwach und mit 95% farblos. Durch jeweiliges weiteres Auswaschen mit 60%igem Alkohol und Untersuchung desselben wurde festgestellt, daß mit steigendem Prozentgehalt auch steigende Mengen Elutionsmittel zum Entfernen des Alkaloids aus der Säule erforderlich waren. So wurden 100 g 95%iger Alkohol zum Auswaschen benötigt. Der höchste Reinheitsgrad des isolierten Colchicins wurde durch Auswaschen der Säule mit einem Äther-Methanolgemisch 9 + 1 erreicht. 2 g Tinktur wurden mit etwas Ammoniak alkalisch gemacht, auf die Säule gegossen und mit dem Gemisch eluiert. Zur Entfernung des gesamten Alkaloids waren 40 g der Waschflüssigkeit notwendig.

Zur Reinheitsprüfung wurden 20 g Tinktur in einer größer dimensionierten Röhre mit 95%igem Alkohol chromatographiert und das Eluat eingedampft. Aus dem weißen Rückstand, dem noch gefärbte Verunreinigungen anhafteten, wurde ein Schmelzpunkt von 144° erhalten, was sich mit dem F. P. von reinem Colchicin



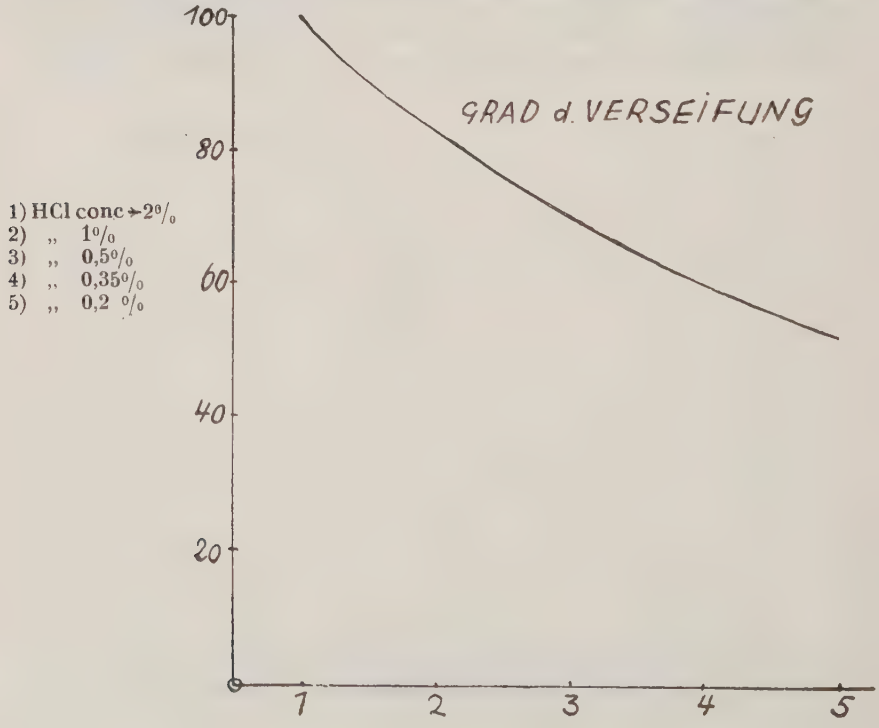
deckt. Ein Mischschmelzpunkt ergab keine Depression (142°). Die Identitätsproben waren positiv.

Die Eignung der Farbreaktionen wurde bereits im theoretischen Teil besprochen.

ad a) 0,02 g Colchicin wurden in wenig Wasser gelöst, 5 cm³ verdünnte Salzsäure zugesetzt und mit Wasser auf genau 100 cm³ aufgefüllt. Von dieser Stammlösung wurden verdünnte Lösungen bis zu Konzentration 0,001% angefertigt.

Die Untersuchung im Pulfrich Photometer ergab Absorptionsmaxima für 430 — 470 mμ entsprechend den Spektralfiltern S 43 bis S 47. Beim Aufstellen der Eichkurve ergaben sich jedoch zum Teil erhebliche Abweichungen von der Proportionalität zwischen Konzentration und Extinktionskoeffizient, eine Folge des zu breiten, zur Messung benutzten Spektralbereichs.

Zur Ermittlung der Verseifungsgeschwindigkeit wurden 0,004 g Colchicin in 5 cm³ verdünnter Salzsäure gelöst und 5 solcher Proben in verschiedener Zeitdauer auf dem Wasserbad



verseift. Eine sechste Probe wurde auf dem Drahtnetz kurz aufgekocht. Nach dem Erkalten der Lösungen wurden sie mit verdünnter Eisenchloridlösung bis zur Farbkonstanz versetzt, und im Stufenphotometer die Konzentration gemessen. Die Kurve zeigt, daß nach 25 Minuten bzw. nach kurzem Aufkochen die Verseifung nicht mehr beeinflußt wird und hiermit quantitativ verläuft.

Kurve s. S. 35.

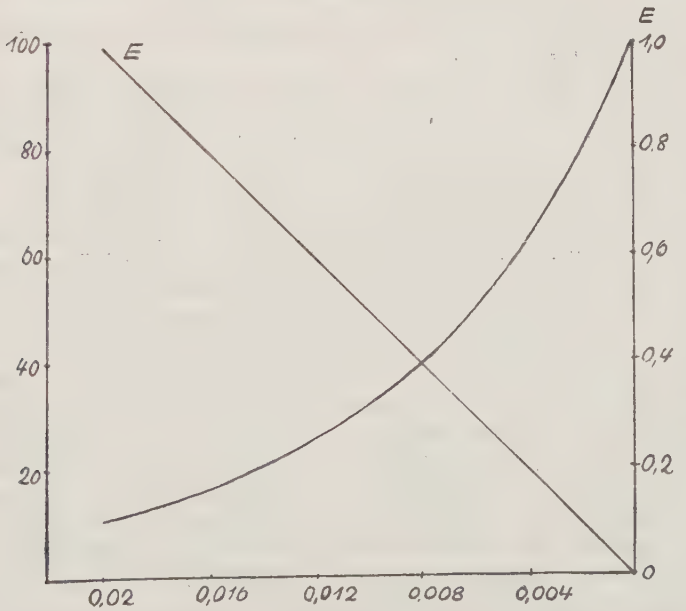
Weiterhin wurden 0,004 g Colchicin in Wasser gelöst, mit wechselnden Mengen Salzsäure versetzt und verseift. Die nächste Kurve läßt erkennen, daß die Verseifung von der Säurekonzentration abhängig ist und erst ab 2% Salzsäure quantitativ verläuft.

Kurve s. S. 36.

Eine Verseifung in alkoholischer Lösung trat nicht ein.

ad c) 0,02 g Colchicin pur. amorph wurde in 5 cm³ Wasser gelöst, mit 5 cm³ verdünnter Salzsäure versetzt und eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde tropfenweise verdünnte Eisen-III-Chloridlösung 1 : 100 bis zur Farbkonstanz zugegeben und mit Wasser auf genau 100 cm³ aufgefüllt. Aus der Stammlösung wurden verdünnte Lösungen bis

Extinktionskurve



Colchicin (Colchicein) · HCl + $FeCl_3$, Filter S. 75, S = 50 mm

zur Konzentration 0,001% hergestellt und die Lösungen im Pulfrich Photometer untersucht. Als Absorptionsmaximum ergab sich hier 750 mμ, dem Spektralfilter S 75 entsprechend. Die ermittelte Eichkurve verläuft ideal, d. h. ihre Extinktionswerte in Abhängigkeit von der Konzentration eingetragen, ergeben eine Gerade.

Zur Prüfung auf gleichmäßige Verseifung wurden 0,02, 0,015, 0,01 und 0,005 g Colchicin in verdünnter Salzsäure gelöst, verseift, mit Eisenchloridlösung bis zur Farbkonstanz versetzt und die Konzentration ermittelt. Es ergab sich eine vollkommene Übereinstimmung mit den Werten der Eichkurve.

Um festzustellen, ob die Zugabe der Eisenchloridlösung den Kurvenverlauf in irgend einer Weise beeinträchtigt, wurde das Absorptionsmaximum gemessen und mit 430 mμ festgestellt. Im gleichen Wellengebiet liegt das Maximum des gelben Öls, so daß also von diesen beiden Seiten kein Einfluß auf die Meßgenauigkeit in Frage kommt.

Die unterste Grenze der Bestimmung liegt bei etwa 0,002 g Colchicin. Die Lichtabsorption beträgt hier noch $D^{0}/_{0} = 80$, ist also bei einiger Übung noch genau abzulesen. Unter Berücksichtigung des normalen Alkaloidgehaltes von 0,4% (Mindestmenge) kommt man mit 2 g Urtinktur gut aus.

Zur Gehaltsbestimmung der Colchicum Urtinktur schlage ich folgende Metode vor:

2 g der Tinktur werden mit einigen Tropfen Ammoniakflüssigkeit alkalisch gemacht, auf die Adsorptionssäule gefüllt und nach Eindringen der Flüssigkeit mit soviel Äther-Methanol-Mischung 9 + 1 ausgewaschen, daß 50 cm³ Eluat erhalten werden. Das farblose klare Gemisch wird nun mit 5 cm³ destilliertem Wasser und mit 5 cm³ verdünnter Salzsäure versetzt, der Äther und der Alkohol abdestilliert und weitere 25 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt, bzw. auf dem Drahtnetz auf offener Flamme zum Sieden erhitzt. Nach erfolgtem Abkühlen gibt man tropfenweise solange verdünnte Eisenchloridlösung 1:100 hinzu, bis sich die Farbintensität im durchfallenden Licht betrachtet nicht weiter ändert. Hierbei schlägt die Farbe von gelb nach grün um. Nun wird die grüne Lösung in ein 25 cm³ fassendes Normalkölbchen gegeben, mit Wasser auf die Marke aufgefüllt, wenn nötig, anschließend filtriert und in eine Glasküvette mit der Schichtdicke 50 mm gefüllt. Unter Verwendung von Filter S 75 wird die Lichtabsorption festgestellt und an der Eichkurve die entsprechende Colchicinmenge abgelesen. Das Ergebnis, mit 12,5 multipliziert (durch 4×50), ergibt den Prozentgehalt der Urtinktur.

Zur Bestimmung des Colchicins in Semen Colchici werden 0,2 g Samen fein gepulvert, mit zweimal 5 g Methanol am Rückflußkühler ausgekocht, klar abgegossen und mit etwas Methanol nachgespült. Die Flüssigkeit wird auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft, der Rückstand mit 2 cm³ 60%igem Alkohol aufgenommen und die Bestimmung im weiteren wie vorher durchgeführt. Die abgelesene Menge Colchicin mit 125 multipliziert, ergibt den Prozentgehalt des Samens.

Zur Ablesung verwendet man am besten folgende Eichkurve mit logarithmischer Ordinatenteilung:

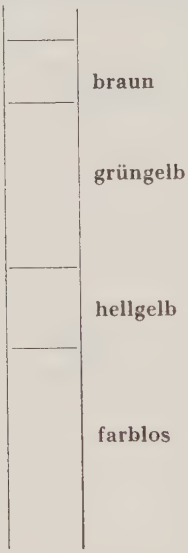
Colchicin (Colchicein) · HCl + $FeCl_3$, Filter S. 75 s = 50 mm

Folgende Werte wurden abgelesen:

Konzentration	D%	E 5 cm.	$\varepsilon = \frac{E}{s}$
0,02	10,2	0,991	0,198
0,015	18,1	0,742	0,1484
0,01	31,5	0,5015	0,1003
0,005	56,0	0,252	0,0504
0,002	80,5	0,0945	0,0189
0,001	90,0	0,046	0,0092
0	100,0	0,000	0.

Jaborandi Urtinktur.

5,0 Jaborandi Urtinktur werden chromatographiert, wobei sich folgendes Bild ergibt:

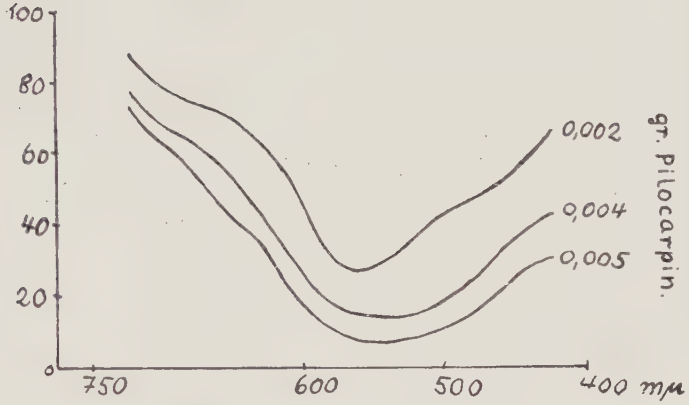


Eluat grünlichgelb.

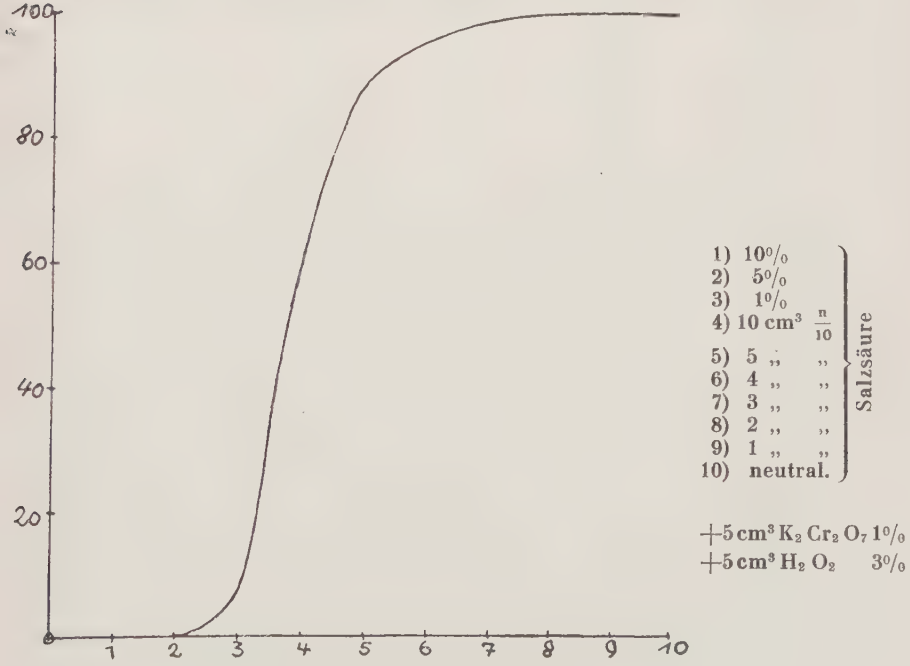
Nun wird mit vergälltem, 95%igem Alkohol (l. c.) ausgewaschen und zwar solange, bis 50 cm³ des schwach gelblichgrünen Eluats vorliegen. Nach Zugabe von 2 cm³ n/10 Salzsäure und 5 cm³ destilliertem Wasser wird der Alkohol abdestilliert und die salzsaure Lösung einmal kräftig mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Alkaloide liegen nun in einer nur noch schwachgefärbten, salzsauren Lösung vor und sind der Gehaltsbestimmung zugängig.

Zur Prüfung der Farbreaktionen wurde zunächst die Erfassungsgrenze durch systematisches Verdünnen einer 1%igen Pilocarphinhydrochloridlösung festgestellt und mit 0,00005 als gerade noch wahrnehmbare Färbung in dickerer Schicht ermittelt. Die praktische Grenze für die kolorimetrische Bestimmung bei 5 cm Schichtdicke beträgt 0,0003, entsprechend D% = 85. Wie die folgende Farbkurve zeigt, liegen die Absorptionsmaxima zwischen 530 mμ und 570mμ.

Farbkurve der Reaktion anch Helch



Die Abhängigkeit der Farbtiefe von Art und Konzentration der Reagentien mußte geprüft werden, da bei den Vorversuchen eine gewisse Variabilität des Reaktionsverlaufs beobachtet wurde.

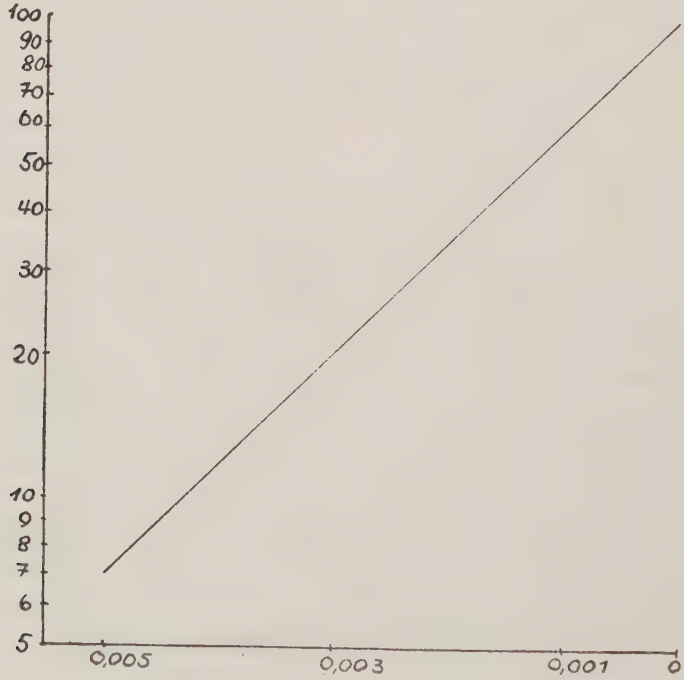


Die Reaktion hängt vom p_H sowie von der Menge Bichromat und und Wasserstoffperoxyd ab. Als günstigste Konzentration wählte ich für Wasserstoffperoxyd eine 3%ige, für das Kaliumbichromat eine 1%ige Lösung. Es ist für die Reaktion wesentlich, daß die Wirksamkeit des Oxydationsgemisches nicht zu rasch verschwindet, ein Umstand, der vom p_H des Reaktionsgemisches bestimmt wird. Arbeitet man in neutraler Lösung, so genügen kleinere Mengen der Reagentien. Säurezusätze beeinträchtigen in steigendem Maße die oxydative Wirkung, so daß hier die Mengen größer gewählt werden müssen. Wie die folgende Kurve zeigt, wird eine optimale Färbung bei einem Säurezusatz von 0 bis 3 cm³ n/10 Salzsäure, 5 cm³ Wasserstoffperoxyd 3%ig und 5 cm³ Kaliumbichromat 1%ig erreicht.

Somit ist die quantitative Erfassung des Alkaloids sichergestellt.

Kurve s. S. 41 unten

Die Eichkurve wurde so hergestellt, daß wässrige Pilocarpinhydrochloridlösungen mit 50, 40, 30, 20, 10 mg Substanz mit 40 cm³ Chloroform, 5 cm³ 1%iger Kaliumdichromatlösung, 5 cm³



Pilocarpin. Hyorochlor, Filter S. 57, S = 50 mm

n/10 Salzsäure und 5 cm³ 3%igem Wasserstoffperoxyd versetzt und 5 Minuten kräftgi geschüttelt wurden. Die violettblaue Flüssigkeit wurde dann in ein 50 cm³ fassendes Normalkölbchen gegeben, mit Chloroform bis zur Marke aufgefüllt, durch ein trockenes Filter filtriert und die Adsorption bei s = 5 cm mittels Filter S 57 bestimmt. Die Haltbarkeit der Lösung hängt vom Wassergehalt des Lösungsmittels ab. Während bei wasserfreiem Solvens auch bei längerer Aufbewahrung keine Veränderung festzustellen ist, beträgt die Haltbarkeit der durch ein trockenes Filter filtrierten Lösung nur etwa eine Stunde, so daß die Gehaltsbestimmung innerhalb dieser Zeit erfolgen muß. —

Um festzustellen, ob die Farbreaktion durch die Eigenfarbe des Eluats gestört wird, nahm ich eine Blindprobe vor, indem ich mit Chloroform ohne Zugabe der Reagentien schüttelte. Das Chloroform war kaum wahrnehmbar gefärbt und wies in dem verwandten Filterbereich keine Adsorption auf. Die Verunreinigungen wurden durch die erste Ausschüttung restlos entfernt.

Nachstehende Werte wurden abgelesen: Kurve s. S. 42

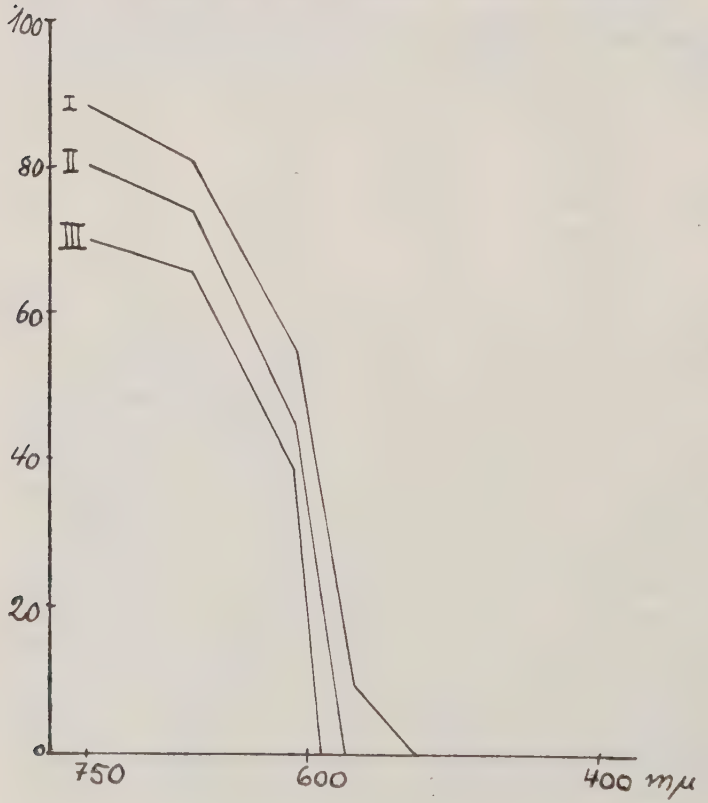
Konz.	D %	E/s
0,005	6,9	1,161
0,004	12	0,921
0,003	19,5	0,710
0,002	35,5	0,450
0,001	60	0,222
0	100	0

Zur Gehaltsbestimmung von Pilocarpin und Isopilocarpin in Jaborandi Urtinktur werden 3 g der Tinktur chromatographiert und die Säule solange mit 95%igem, vergälltem Alkohol ausgewaschen, bis 40 cm³ Eluat vorliegen. Die gelbgrüne Flüssigkeit wird mit 2 cm² n/10 Salzsäure und 5 cm³ destilliertem Wasser versetzt und vom Alkohol auf dem Wasserbade befreit. Die erkaltete Flüssigkeit, die sauer reagieren muß, wird mit 20 cm³ Chloroform gut ausgeschüttelt. Nach Trennung der Schichten wird das Chloroform zur Entfernung mitgerissenen Alkaloids mit 5 cm³ destilliertem Wasser ausgeschüttelt, die wässrigen Flüssigkeiten werden vereinigt, nacheinander mit 40 cm³ Chloroform, 5 cm³ 1%iger Kaliumdichromatlösung und 5 cm³ 3%igem Wasserstoffperoxyd versetzt und 3 Minuten unter zeitweiligem Lüften des Stopfens im Scheidetrichter kräftig geschüttelt. Das violettblaue Chloroform wird nun von der gelbgrünen wässerigen Schicht getrennt und im 50 cm³ Normalkörbchen mit Chloroform auf die Marke aufgefüllt. Zur Klärung des Chloroforms wird durch ein trocknes, bedecktes

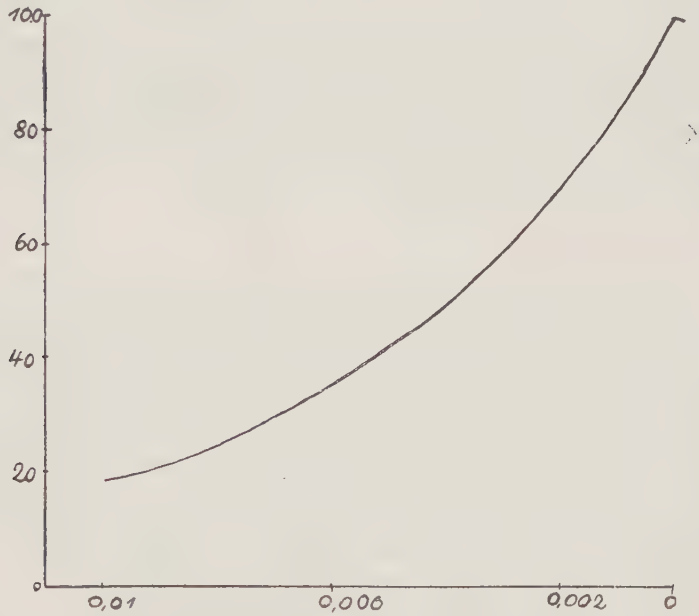
Filter filtriert und die Konzentration bei Schichtdicke s = 5 cm mittels Filter S 57 gemessen. Die auf der Eichkurve abgelesene Menge Pilocarpin, mit $\frac{100}{3}$ multipliziert, ergibt den Prozentgehalt Pilocarpin und Isopilocarpin der Urtinktur, ausgedrückt in Pilocarpinhydrochlorid.

Rheum Urtinktur.

Zur Aufstellung der Eichkurve löste ich 1 bis 10 mg reinste Chrysophansäure in 5%iger Kalilauge und untersuchte die Lösungen im Photometer. Dabei zeigte sich, daß die Haltbarkeit in Bezug auf die Farbintensität nur eine beschränkte ist und sich bei der Ermittlung der Kurve störend bemerkbar macht.



Durch Verwendung methylalkoholischer Kalilauge oder durch Zusatz von Methanol zur wässrigen Lösung wird eine längere Farbkonstanz erreicht (nach 12 Stunden nahezu unverändert). Die folgende Eichkurve erhielt ich durch Auflösen von 1 bis 10 mg Chrysophansäure in 100 cm³ 5%iger methylalkoholischer Kalilauge und Messung der D % bei 0,5 cm Schichtdicke und Filter S 43. Der Verlauf beweist, daß das Lambert-Beer'sche Gesetz erfüllt wird.



Chrysophansäure, Filter S. 43, s = 0,5 cm.

Um die Emodin-Eichkurve aufstellen zu können, wurden 1 bis 10 mg reinstes Rheumemodin in 100 cm³ 10%iger Sodalösung gelöst und bei Schichtdicke 1 cm und Filter S 43 die Lichtdurchlässigkeit in D% bestimmt. Auch hier gilt das oben erwähnte Gesetz.

Gehaltsbestimmung:

0,5 g Rheum Urtinktur werden mit 5 cm³ verdünnter Salzsäure gemischt und zur Hydrolyse eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Die erkaltete Lösung, in der sich die Agluka

in gelblich braunen Flocken abgeschieden haben, wird mit 50 cm³ Chloroform 5 Minuten kräftig geschüttelt, mit etwas Chloroform nachgespült und zur Entfernung wässeriger Bestandteile mit 3 g getrocknetem Natriumsulfat versetzt. Nun wird vom Bodensatz klar abgegossen, mit einigen cm³ 10%iger Sodalösung 5 Minuten kräftig geschüttelt. Die rote Lösung wird im 50 cm³ Normalkölbchen auf die Marke ergänzt und wenn nötig filtriert. Die abgelesenen D % werden auf der Eichkurve verglichen. Die erhaltene Menge Emodin mit 100 multipliziert, ergibt den Prozentgehalt der Urtinktur.

Das immer noch gelb gefärbte Chloroform wird jetzt mit 2 mal 15 cm³ 5%iger Kalilauge bis zur vollständigen Entfärbung ausgeschüttelt, im 50 cm³ Normalkölbchen mit Methanol auf die Marke aufgefüllt und die Lichtadsorption im Photometer festgestellt. Die abgelesene Menge Chrysophansäure mit 100 mulipliziert, ergibt den Prozentgehalt der Urtinktur.

Frangula Urtinktur.

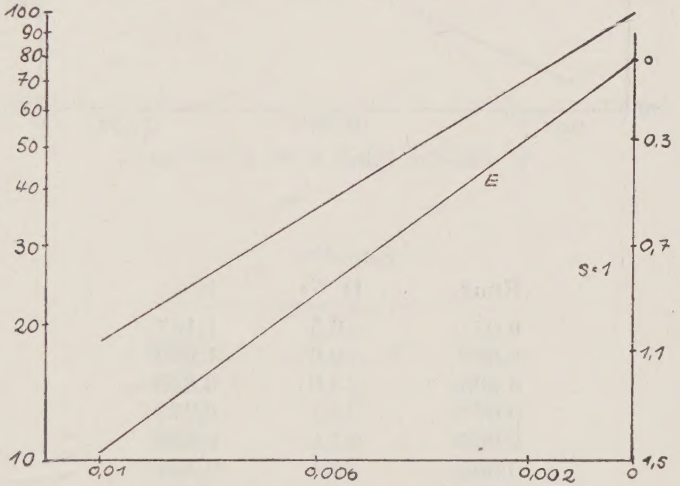
0,5 g Frangula Urtinktur werden mit 5 cm³ verdünnter Salzsäure gemischt und eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach vollständigem Erkalten wird die gelbliche, braunflockige Flüssigkeit 5 Minuten mit 40 cm³ Chloroform geschüttelt, das Chloroform über geglühtem Natriumsulfat getrocknet, nachgespült und dann zweimal mit 20 cm³ Sodalösung bis zur Entfärbung ausgeschüttelt. Im 50 cm³ Normalkölbchen wird dann mit destilliertem Wasser auf die Marke aufgefüllt. Mit der erhaltenen roten Lösung wird eine 1 cm Küvette gefüllt und mittels Filter S 43 die Lichtabsorption gemessen. Die abgelesene Menge Emodin mit 100 multipliziert, ergibt den Prozentgehalt der Urtinktur.

Rubia tinctorum Urtinktur.

0,5 g Rubia Urtinktur werden mit 5 cm³ verdünnter Salzsäure gemischt und zur Hydrolyse eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Die erkaltete Lösung wird 5 Minuten mit 50 cm³ Chloroform ausgeschüttelt, mit wenig desselben Lösungsmittels nachgespült, das Chloroform mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet, nachgespült und die gelbe Lösung mit 5%iger Kalilauge bis zur Entfärbung geschüttelt. Die violette Alizarinlösung wird nun mit Methanol im 50 cm³ Kölbchen bis zur Marke aufgefüllt, wenn nötig filtriert, eine 0,5 cm Küvette gefüllt und mittels Filter S 55 die Lichtabsorption bestimmt. Die abgelesene Menge Alizarin mit 100 multipliziert, ergibt die Gesamtmenge der Urtinktur in Prozenten.

Soll in einer der Tinkturen die Menge der freien Anthrachinone ermittelt werden, so wird vor der Hydrolyse auf dem Wasserbad mit zweimal 15 cm³ Chloroform gründlich durchgeschüttelt, das Chloroform mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet, mit Sodalösung und anschließend mit Kalilauge oder mit den jeweils im Vorstehenden angegebenen Lösungsmitteln ausgeschüttelt und im 50 cm³ Normalkölbchen aufgefüllt. Da nun in den meisten Fällen die Konzentration bei Füllung der vorgeschriebenen Küvetten nicht ausreicht, muß die Gehaltsbestimmung in Küvetten größerer Schichtdicke erfolgen und die Berechnung mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten ausgeführt werden. Nachstehend die einzelnen Eichkurven sowie die Kurven unter Berücksichtigung der Extinktionskoeffizienten.

g · Chrysophansäure, Filter S. 43, S = 0,5 cm.

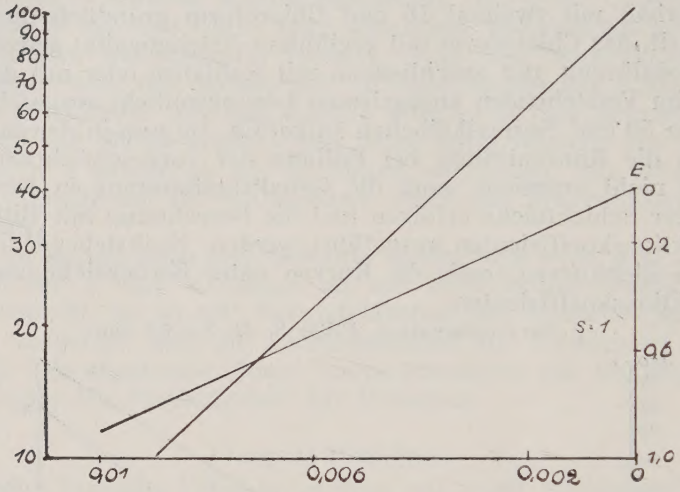


g · Chrysophansäure, Filter S. 43, Extinktionskurve für S = 1 cm.

Chrysophansäure:

Konz.	D %	E/s
0,01	18,35	1,473
0,009	21,7	1,328
0,008	25,0	1,204
0,007	30,0	1,046
0,006	35,5	0,900
0,005	41,0	0,774
0,004	49,0	0,620
0,003	60,5	0,437
0,002	71,0	0,298
0,001	86,0	0,132
0,0	100,0	0,000

9 · Frangula-Emodin, Filter S. 43, Extinktionskurve für S = 1 cm.

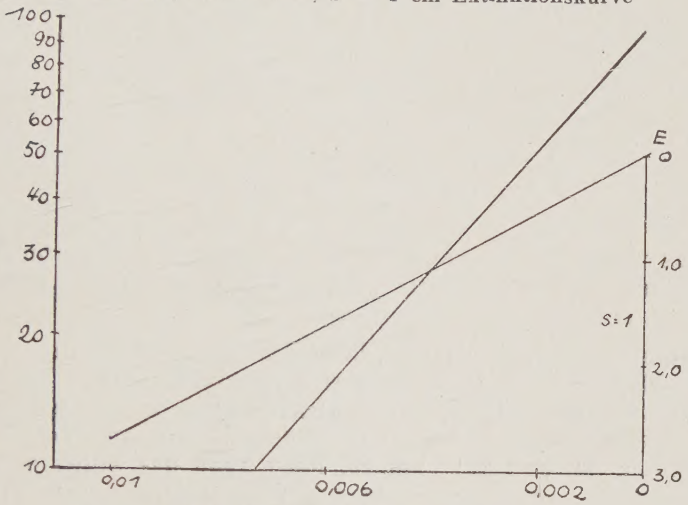


g · Emodin, Filter S. 43, S = 1 cm

Emodin:

Konz.	D %	E/s
0,01	6,5	1,187
0,009	10,0	1,000
0,008	13,0	0,886
0,007	16,7	0,777
0,006	21,5	0,668
0,005	28,1	0,551
0,004	37,0	0,432
0,003	46,5	0,333
0,002	61,5	0,211
0,001	79,0	0,102
0,0	100,0	0,000

g · Alizarin, Filter S. 55, S = 1 cm Extinktionskurve



g · Alizarin, Filter S. 55, S = 0,5 cm

Alizarin:

Konz.	D %	E/s
0,01	4,4	2,74
0,009	6,0	2,44
0,008	8,1	2,18
0,007	11,1	1,91
0,006	15,0	1,65
0,005	21,0	1,36
0,004	28,3	1,09
0,003	38,0	0,84
0,002	54,0	0,436
0,001	74,0	0,206
0,0	100,0	0,000

Lebenslauf.

Ich wurde am 25. August 1912 als Sohn des Tapeziermeisters Otto Schmid und seiner Ehefrau Dagmar geb. Erichsen zu Frankfurt a. M. geboren.

Vom Jahre 1919 bis 1931 besuchte ich das Reformrealgymnasium Musterschule zu Frankfurt a. M. und bestand dort am 4. März 1931 die Reifeprüfung. Anschließend begann ich meine Lehrzeit als Apothekerpraktikant in der Weißfrauenapotheke zu Frankfurt a. M. und legte am 18. März 1933 das Vorexamen zu Wiesbaden ab. Im Sommersemester 1933 begann ich das pharmazeutische Studium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt a. M., das ich nach dreisemestriger Unterbrechung am 5. 5. wieder aufnahm, und beendete das Studium daselbst am 17. Oktober 1936 mit Ablegung des pharmazeutischen Staatsexamens. Darauf studierte ich am Pharmazeutischen Institut zu Frankfurt a. M. weiter, war vom 1. Januar 1937 bis 1. Oktober 1938 als Hilfsassistent tätig und bin seit dieser Zeit außerplanmäßiger Assistent am selben Institut.

Meine akademischen Lehrer waren:
Dieterle, Huf, Külz, Laibach, Lautenschläger, Leonhardt, Meißner, Niemann, Popp, Ruberg, Schreiber, Schumann.

Walter Schmid.